

V 101

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	13-12-2019
L. dz. RN-BM/	216/2019

Prof. dr hab. Agnieszka Marczak,  
 Katedra Biofizyki Medycznej,  
 Instytut Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego  
 ul. Pomorska 141/143  
 90-236 Łódź

Łódź, 4.12.2019 r

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

**Ocena**

**dorobku naukowego oraz osiągnięcia naukowego dr n. med. Anny Lei-Szpak w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego**

**Informacje ogólne**

Dr n. med. Anna Leja-Szpak od początku swojej kariery naukowej i zawodowej jest związana z Wydziałem Nauk o Zdrowiu (poprzednia nazwa: Wydział Ochrony Zdrowia) Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum, gdzie w 2000 r ukończyła z najwyższą lokatą studia magisterskie, za co otrzymała nagrodę Fundacji Zdrowia Publicznego. Stopień naukowy doktora nauk medycznych uzyskała w 2004 r na podstawie rozprawy pt: „Rola melatoniny i jej prekursora L-tryptofanu w ostrym zapaleniu trzustki u szczura”. Należy podkreślić, że rozprawa ta została wyróżniona (*summa cum laude*). Obecnie Habilitantka pracuje na stanowisku adiunkta w Zakładzie Fizjologii Medycznej Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jagiellońskiego – Collegium Medicum.

Habilitantka ukończyła także studia podyplomowe: „Nowy Public Relation” na Wydziale Stosowanych Nauk Społecznych w Wyższej Szkole Europejskiej im. Ks. Tischnera w Krakowie, „Biologia Molekularna” na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie oraz „Zarządzanie sferą usług medycznych” w Szkole Przedsiębiorczości i Zarządzania Akademii Ekonomicznej w Krakowie. Odbyła również liczne szkolenia i kursy podnoszące Jej kwalifikacje zarówno dydaktyczne, jak i naukowo-badawcze.

Recenzję dorobku naukowego oraz osiągnięcia naukowego dr. n. med. Anny Lei-Szpak, ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, przygotowałam w oparciu o przesłane materiały, w tym autoreferat, wykaz opublikowanych prac naukowych, informację o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki, analizę bibliometryczną, kopie publikacji, a także oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.

**Ocena osiągnięcia naukowego**

Na osiągnięcie naukowe zatytułowane „**Udział melatoniny i jej metabolitu N<sup>1</sup>-acetyl-N<sup>2</sup>-formyl-5metoksykynuraminy (AFMK) w modulacji szlaku apoptotycznego w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej**”, składa się zestaw sześciu, spójnych tematycznie prac, z czego pięć to publikacje

doświadczalne, a jedna jest pracą przeglądową. Prace te zostały opublikowane w latach 2007-2018. Wszystkie ukazały się w czasopiśmie naukowym o charakterze medycznym lub farmakologicznym, w tym pięć znajdujących się na liście *Journal Citation Reports (JCR)*. Są to: *Journal of Physiology and Pharmacology* (2 prace), *Journal of Pineal Research*, *Pharmacological Reports*, *Histology and Histopathology*. Jedna z prac została opublikowana jako rozdział w monografii, w *Interdisciplinary research in nursing: past and recent*. Wyd. Vesalius, Kraków. Artykuły te są wieloautorskie, jednakże oświadczenia współautorów oraz fakt, że w zdecydowanej większości z tych prac dr Anna Leja-Szpak jest pierwszym autorem, a także w kilku pełni rolę autora korespondującego, jednoznacznie wskazują na kluczowy udział Habilitantki w ich powstawaniu, to jest na etapie formułowania koncepcji pracy, planowania kolejnych eksperymentów, wykonania doświadczeń, interpretacji uzyskanych wyników, analiz statystycznych, jak też napisania manuskryptów. Łączny współczynnik oddziaływania tych prac (*Impact Factor*) wynosi 13,542 (107 pkt MNiSW).

Osiągnięcie naukowe Habilitantki jest usytuowane w obszarze badań dotyczących raka trzustki (łac. *carcinoma pancreatis*; ang. *pancreatic cancer*) i skupia się na ocenie możliwości zastosowania melatoniny oraz jej metabolitu N<sup>1</sup>-acetyl-N<sup>2</sup>-formyl-5metoksykynuraminy (AFMK) jako środków wspomagających konwencjonalną terapię u pacjentów z rakiem trzustki. Wybór ten jest w pełni uzasadniony z uwagi na fakt, że rak ten jest wciąż trudny do diagnozy i leczenia z uwagi na bezobjawowy lub niespecyficzny przebieg wczesnej fazy choroby oraz niską skutecznością diagnostyczną dostępnych powszechnie metod. W związku z tym zarówno zachorowalność, jak i umieralność pozostaje na wysokim poziomie i niezwykle cenne są poszukiwania nowych, skuteczniejszych metod leczenia bądź działań wspomagających standardowe leczenie.

Do badań wybrano linię komórkową ludzkiego raka trzustki PANC-1. Przeprowadzone w ramach osiągnięcia naukowego eksperymenty (*praca nr 2*) potwierdziły, że komórki te wykazują ekspresję receptorów błonowych dla melatoniny (Mel A/B-1), co uzasadnia użycie tego modelu badawczego w kontekście eksperymentów związanych z melatoniną. Dzięki zastosowaniu luzindolu, blokera receptora melatoniny, Habilitantka potwierdziła także iż mechanizm działania melatoniny wynika z jej interakcji z tymi receptorami błonowymi, co także jest cenną obserwacją.

Badania prowadzone w ramach osiągnięcia naukowego związane były z apoptozą (programowaną śmiercią komórki) indukowaną w komórkach raka trzustki PANC-1 w odpowiedzi na działanie melatoniny oraz AFMK. Ten rodzaj śmierci komórkowej jest pożądany w terapii nowotworów, więc badania w tym zakresie są niewątpliwie ważne przy poszukiwaniu potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Badano także synergizm działania melatoniny z wybranymi środkami chemioterapeutycznymi i potwierdzono iż stosowanie melatoniny lub AFMK może stanowić działanie wspierające chemioterapię gemcytabiną (*praca nr 5*). Eksperymenty zostały dobrze zaplanowane. Habilitantka potwierdzała indukcję apoptozy zarówno poprzez oznaczenie ekspresji kaspaz, fragmentacji

jądrowego DNA, jak i analizę białek pro i anty-apoptotycznych (Bax, Bcl2). Niezwykle ciekawe są doświadczenia związane z udziałem Białek Szoku Ciepłego (HSPs, ang. *Heat Shock Proteins*) w regulowaniu procesu apoptozy w komórkach raka trzustki pod wpływem badanych związków. Coraz więcej doniesień potwierdza znaczenie HSP jako markera odpowiedzi komórki na stres w tym ich udział w procesie nowotworzenia oraz roli w apoptozie, ale niewątpliwie jest jeszcze wiele niewiadomych jeśli chodzi o mechanizmy odpowiedzialne za tę indukcję. Wiedza na temat mechanizmów regulacji białek szoku ciepłego wykorzystywana może być podczas opracowywania nowych strategii leczenia nowotworów. Wyniki uzyskane przez Habilitantkę także dają pewne wskazówki w tym kierunku. W pracy nr 1. wykazano m in, że pod wpływem melatoniny dochodzi do zwiększenia produkcji niefosforylowanej formy białka HSP27, zarówno w cytoplazmie, jak i jądrze komórkowym komórek PANC-1 oraz wzrost ufosforylowanej formy we frakcji jądrowej w wyniku aktywnego przemieszczania się tego białka z cytozolu do jądra komórkowego. Obserwowano także nadekspresję białek HSP90  $\alpha/\beta$  i HSP70 (*praca nr 3 i 4*) oraz proapoptotyczny efekt działania melatoniny osiągnięty poprzez stymulację ekspresji Bax i aktywację kaspazy-9 (*praca nr 2*).

Dr Anna Leja-Szpak do zrealizowania swoich celów badawczych zastosowała głównie technikę immunoprecypitacji/immunoblottingu, prowadząc przy jej użyciu analizę ekspresji wielu białek, a także opanowała techniki prowadzenia hodowli komórkowych w warunkach sterylnych i metodę oznaczania efektu cytotoksycznego mierzonego w ilości uwolnionej dehydrogenazy mleczanowej. Techniki te opanowała bardzo dobrze, choć w przyszłości w mojej opinii korzystnym byłoby także dodatkowo oznaczanie aktywności badanych enzymów.

Uzupełnieniem i podsumowaniem badań stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitantki jest praca przeglądowa (*praca nr 6*), w której dokonano analizy piśmiennictwa z zakresu badań nad udziałem melatoniny w nowotworzeniu gruczołu trzustkowego. Habilitantka odnosi się w tej publikacji także do badań własnych i dyskutuje je z osiągnięciami z innych ośrodków.

W podsumowaniu mojej oceny osiągnięcia naukowego chciałabym podkreślić dużą wartość poznawczą prezentowanych badań. Wykonane badania potwierdziły, że stosowanie melatoniny oraz jej metabolitu AFMK może stanowić działanie wspierające i uzupełniające dla chemioterapii u pacjentów z rakiem trzustki. W mojej opinii przedstawione osiągnięcie naukowe wnosi wkład do reprezentowanej przez Kandydatkę dyscypliny naukowej, jaką jest biologia medyczna, spełnia ustawowe kryteria i może stanowić podstawę do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego.

### **Ocena aktywności naukowej**

Głównym nurtem zainteresowań naukowych dr. n med. Anny Lei-Szpak były i są bardzo aktualne badania dotyczące schorzeń trzustki, w tym patogeneza ostrego zapalenia trzustki oraz neuronalna i hormonalna regulacja wydzielania trzustkowego. Habilitantka bardzo szeroko potraktowała to

zagadnienie podejmując między innymi badania mające na celu określenie efektu endotoksemii, przebytej w okresie noworodkowym, na przebieg ostrego zapalenia trzustki w wieku dorosłym, określenie udziału nerwów czuciowych oraz nerwu błędnego w oddziaływaniu greliny oraz hormonu wzrostu na gruczoł trzustkowy w przebiegu ostrego zapalenia i w regulacji czynności zewnątrzwydzielniczej trzustki, a także określenie wpływu czynnika antysekrecyjnego (AF) na czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki. Habilitantka określała także rolę białek szoku termicznego i ich powiązanie z apoptozą w komórkach monomac-6 pod wpływem infekcji *Helicobacter pylori*. Na uwagę zasługuje także pośrednie powiązanie występowania ostrego zapalenia trzustki czy procesów nowotworowych z problemem otyłości, poprzez włączenie do badań greliny – hormonu „głodu” i połączenie z efektem działania melatoniny, hormonu odpowiedzialnego za regulację naszego cyklu dobowego, który także, na co ostatnio zwrócono uwagę, może być brany pod uwagę jako czynnik pomocny w walce z otyłością. Coraz częstsze występowanie otyłości, w ostatnich latach stało się poważnym problemem na skalę światową, a nadmiar tkanki tłuszczowej jest związany ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia między innymi nowotworów. Stąd też wszelkie badania pozwalające powiązać te dwa ważne zagrożenia cywilizacyjne są jak najbardziej cenne.

Do ciekawych wyników należy stwierdzenie, że zarówno egzogenna melatonina, jak również ta wytwarzana endogennie z L-tryptofanu, zapobiega uszkodzeniom trzustki wywołanym niedokrwieniem-reperfuzją, co autorzy przypisują zahamowaniu peroksydacji lipidów i produkcji reaktywnych form tlenu oraz zmniejszeniu produkcji cytokin prozapalnych, przy równoczesnym wzroście aktywności cytokin przeciwzapalnych. Badania prowadzone przez Habilitantkę mają wyraźnie aplikacyjny charakter. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość zastosowania zarówno melatoniny, jak i jej prekursora jako substancji uzupełniających w standardowej terapii stosowanej u pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki, a także jako element strategii zapobiegawczej przed stanami zapalnymi tego gruczołu.

Nieco odmienna, ale równie ważna, także ze społecznego punktu widzenia, jest tematyka związana z opieką nad pacjentką w okresie ciąży, porodu i połogu. Pani dr Leja-Szpak w licznych publikacjach w czasopismach branżowych (*Położna; Problemy Pielęgniarstwa; Pielęgniarstwo Polskie*) omawia zagadnienia związane z przebiegiem ciąży powikłanej, przygotowania do porodu fizjologicznego, samopoczucia pacjentek, wykorzystania naturalnych metod łagodzenia bólu porodowego czy roli położnej w przeprowadzaniu ciąży fizjologicznej i porodu. Powyższe zagadnienia i przekazywanie wyników badań szerokiemu gronu odbiorców może podnosić świadomość społeczeństwa na przykład w zakresie potencjału naturalnych metod łagodzenia bólu porodowego, który nie jest obecnie w pełni wykorzystany z uwagi chociażby na niedostatek wiedzy w tym zakresie.

Habilitantka stosuje liczne metody badawcze, w tym m.in. oznaczenia peroksydacji lipidów poprzez badanie poziomu MDA i 4-HNE, aktywność enzymów antyoksydacyjnych (SOD, GPx), aktywność cytokin, techniki radioimmunologiczne i inne. Na podkreślenie zasługuje też bogactwo analizowanych

białek i systemów regulacyjnych w komórce np. białek antyapoptotycznych z rodziny IAPs (cIAP-2, cIAP-2, XIAP) i Bcl-2, ekspresję białek szoku cieplnego: p-HSP27, HSP70 i HSP90a/b, analizę szlaku kynureinowego poprzez pomiar ekspresjiIDO, regulację sygnalizacji NF- $\kappa$ B (analiza m in białka I $\kappa$ B), interakcje badanych związków z receptorami błonowymi dla melatoniny oraz serotoniny, aktywność amylazy i prozapalnego TNF $\alpha$ . Habilitantka stosowała także wiele różnych związków oprócz melatoniny – czynnik antysekrecyjny (AF), chemerynę, adiponektynę, grelinę, hormon wzrostu i inne.

W dorobku naukowym dr. Anny Lei-Szpak uwagę zwraca także kilka prac przeglądowych, świadcząca o dobrym rozeznaniu w najnowszych trendach badawczych.

Całkowity dorobek naukowy, wypracowany przez Habilitantkę, „mierzony” przyjętymi wskaźnikami bibliometrycznymi, należy ocenić bez wątpliwości jako bardzo dobry, a nawet wyróżniający. Zgodnie z załączonym przez Habilitantkę spisem publikacji, dorobek naukowy obejmuje łącznie 40 publikacji, w tym 21 prac oryginalnych w czasopismach posiadających IF, 5 artykułów w czasopismach bez IF, 7 prac pełnotekstowych w suplementach czasopism, w tym 6 w czasopismach z IF, 6 prac przeglądowych w tym 5 w czasopismach z IF, 3 opisy przypadków, 4 rozdziały w podręcznikach, dwa pełnotekstowe referaty w materiałach zjazdowych oraz 1 artykuł popularno-naukowy. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) wszystkich opublikowanych prac wynosi 95,166 [74,481 (508 punktów MNiSW) + 20,685 dla publikacji pełnotekstowych w suplementach czasopism]. Liczba cytowań wg. bazy *Web of Science* wynosi bez autocytowań 504, a indeks Hirscha 14, co potwierdza istotność badań Habilitantki i wskazuje na zainteresowanie tymi badaniami przez różne ośrodki naukowe na świecie.

Podkreślić należy także dużą aktywność Habilitantki w zakresie prezentowania wyników badań na konferencjach. Jest współautorką 104 doniesień na zjazdach międzynarodowych i 23 na krajowych, sześć wystąpień ustnych na konferencjach międzynarodowych lub krajowych. Na uwagę zasługuje też fakt iż pięć doniesień uzyskało wyróżnienie.

Podsumowując, dorobek naukowy i aktywność naukową Habilitantki oceniam bardzo dobrze. Szerokie, wielowątkowe badania, tematycznie usytuowane w zakresie biologii medycznej oraz potencjalny aplikacyjny charakter prowadzonych eksperymentów, przekonują mnie do stwierdzenia, że przedstawiona aktywność naukowa jest odpowiednia do ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

#### **Ocena działalności dydaktycznej i popularyzatorskiej, organizacyjnej oraz współpracy naukowej**

Dr n. med. Anna Leja-Szpak wykazuje niezwykle bogatą aktywność w zakresie działalności dydaktycznej i organizacyjnej. Jest doświadczonym dydaktykiem. Od 2000 roku prowadzi liczne zajęcia, w tym ćwiczenia, seminaria oraz wykłady. Prowadziła zajęcia z takich przedmiotów jak: *Fizjologia człowieka, Fizjologia z elementami biochemii, biofizyki i genetyki, Neurofizjologia, Patofizjologia i*

*patologia, czy Elektrofizjologia*. Za swoją działalność dydaktyczną była bardzo wysoko oceniana przez studentów, a także trzykrotnie wyróżniona przez UJ CM, w tym otrzymała indywidualne wyróżnienie za wysoką jakość pracy dydaktycznej. Ważnym i godnym odnotowania osiągnięciem jest wyróżniająca się aktywność Habilitantki w zakresie opieki nad studentami realizującymi prace dyplomowe. Jest promotorem 79 prac licencjackich i 29 prac magisterskich realizowanych na Wydziale Nauk o Zdrowiu UJ CM, w tym prac wyróżnionych, a obecnie jest również promotorem pomocniczym pracy doktorskiej realizowanej w Zakładzie Fizjologii Medycznej Instytutu Fizjoterapii Wydziału Nauk o Zdrowiu UJ CM.

Habilitantka odbyła kilka krótkich staży w ośrodkach Polskich, gdzie podnosiła swoje kompetencje zarówno dydaktyczne, uczestnicząc między innymi w szkoleniu „*Zaawansowane techniki edukacyjne w naukach medycznych*”, jak i zdobywając wiedzę przydatną w prowadzeniu i opracowaniu wyników badań naukowych np. poprzez udział w szkoleniach: „*Statystyka w biologii i medycynie*” czy „*Metaanaliza w statystyce*”.

Badania Habilitantki były finansowane głównie ze środków macierzystej uczelni. W ramach tych środków zrealizowała 7 projektów, w których była kierownikiem oraz 8 jako współwykonawca. Z projektów zewnętrznych, Pani dr Anna Leja-Szpak wymieniła udział, jako wykonawca w dwóch projektach przyznanych przez KBN (w latach 2000-2003 oraz 2004-2007).

W dorobku Habilitantki brak jest wprawdzie staży zagranicznych oraz współpracy międzynarodowej, jednak mimo tego, Jej prace są dostrzegane na arenie międzynarodowej o czym świadczy duża liczba cytowań Jej prac (504 bez autocytowań), co potwierdza, że badania Habilitantki są prowadzone na światowym poziomie.

Dr n. med. Anna Leja-Szpak aktywnie uczestniczy w życiu naukowym ośrodka Krakowskiego działając w Towarzystwach Naukowych blisko powiązanych z Jej zainteresowaniami. Jest członkiem Oddziału Krakowskiego *Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego* (do 2014r była sekretarzem, a od 2014 jest członkiem Komisji Rewizyjnej tego Oddziału). Jest również członkiem *Polskiego Klubu Trzustkowego*, *European Pancreatic Club* oraz *International Association of Pancreatology*, a także *Małopolskiej Okręgowej Izby Pielęgniarek i Położnych*.

Podsumowując, dorobek dydaktyczny, popularyzatorski, organizacyjny oraz w zakresie współpracy naukowej Habilitantki oceniam jako wyróżniający.

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując stwierdzam, że badania prowadzone przez dr n. med. Anna Leja-Szpak mają duże znaczenie zarówno poznawcze, jak i aplikacyjne. Jej osiągnięcia naukowe, organizacyjne, dydaktyczne i popularyzatorskie spełniają kryteria stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora

habilitowanego i świadczą, że jest dobrze przygotowana do samodzielnego prowadzenia badań naukowych. W związku z tym popieram Jej wniosek o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie biologia medyczna.

*A. Marczak*

*Prof. dr hab. Agnieszka Marczak*