

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Pedrycz-Wieczorska
Katedra i Zakład Histologii, Embriologii i Cytologii
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Ul Radziwiłłowska 11
20-080 Lublin

Lublin 25.01.2022

RECENZJA

w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego
dr Ewie Jasek- Gajdzie

Zgodnie z art. 221 ust. 8 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego oraz art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3 Ustawy z dnia 20 lipca 2018, dotyczącego warunków nadania stopnia doktora habilitowanego (dz. U. z 2021 r. poz. 478) przedstawiam niniejszym ocenę osiągnięcia naukowego pt.: „Ocena skojarzonego działania inhibitorów szlaków sygnałowych w hodowli ludzkich komórek białaczkowych.”

Postępowanie o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Ewie Jasek- Gajdzie w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne wszczęła Rada Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Poniższa recenzja została przygotowana w oparciu o informacje zawarte w przesłanym wniosku, obejmującym:

- kopię dyplomu doktora nauk biologicznych (06.11.2006)
- autoreferat
- wykaz osiągnięć naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny
- zaświadczenie potwierdzające odbycie stażów zagranicznych i udziału w projektach badawczych
- informacje naukometryczne przygotowane przez Bibliotekę Medyczną UJ CM.

Do wniosku dołączono kopie 3 publikacji będących podstawą osiągnięcia naukowego wraz z oświadczeniami współautorów dotyczących ich wkładu w przygotowanie powyższych publikacji.

INFORMACJE OGÓLNE:

Dr n. biol. Ewa Jasek- Gajda ukończyła w roku 2000 Wydział Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie i uzyskała tytuł magistra biologii ze specjalnością biologia molekularna (tytuł pracy magisterskiej: „Zmiany cytoszkieletu aktynowego oraz ekspozycji fosfatydyloseryny w apoptozie monocytów”). Po studiach rozpoczęła Studia Doktoranckie na Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum w Krakowie zakończone obroną pracy doktorskiej pt.: „Badanie lekowrażliwości komórek białaczkowych in vitro” i uzyskaniem w roku 2006 stopnia naukowego doktora nauk biologicznych. Od roku 2009 do chwili obecnej pracuje na stanowisku asystenta (do 2009 r), a potem adiunkta w Katedrze i Zakładzie Histologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Od roku

2008 jest członkiem Krakowskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików

OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO:

Dr Ewa Jasek- Gajda przedstawiła osiągnięcie naukowe pt. „Ocena skojarzonego działania inhibitorów szlaków sygnałowych w hodowli ludzkich komórek białaczkowych.”

W oparciu o załączoną do wniosku analizę bibliometryczną osiągnięcie naukowe dr Ewy Jasek- Gajdy stanowią 3 oryginalne prace (suma IF 12,837) powiązane tematycznie i opublikowane w czasopismach z listy Journal Citation Reports należących do kwartyli Q1 (jedna z nich) i Q2 (dwie kolejne, z których jedna mieści się w górnym 40 percentylu JCR). Punkty MNiSW – 270. We wszystkich 3 pracach kandydatka jest pierwszą autorką.

Powyższe stanowią wystarczające minimum jakie muszą bibliometrycznie spełnić prace stanowiące osiągnięcie naukowe niezbędne do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego. Recenzent nie posiada wiedzy, czy prace składające się na powyżej wspomniany cykl zostały/są wykorzystane do celów innego postępowania o nadanie stopnia dr habilitowanego (zakładam, że nie).

Osiągnięcie naukowe kandydatki do stopnia doktora habilitowanego dr Ewy Jasek- Gajdy stanowią prace oryginalne nie będące pracami przeglądowymi, opisami przypadków listem czy abstraktem. Żadna z przedstawionych 3 prac stanowiących cykl oceniany jako osiągnięcie naukowe niezbędne do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego nie jest badaniem wieloosrodkowym z udziałem autora wykazanego jedynie w appendix jako badacz.

Przedstawione oświadczenia współautorów wskazują, że dr Ewa Jasek-Gajda miała dominujący udział w wykonywaniu badań oraz przygotowywaniu manuskryptów. Zgodnie z szacunkiem Kandydatki jest to od 80 do 85%. Opracowywała Ona koncepcję badań, planowała eksperymenty, prowadziła hodowle komórek, wykonywała pomiary cytometryczne proliferacji komórek, cyklu komórkowego, apoptozy, stresu oksydacyjnego, przygotowywała homogenaty komórkowe do Western Blot, uczestniczyła w analizie danych uzyskanych z cytometrii przepływowej, w opracowaniu statystycznym wyników badań, zbieraniu piśmiennictwa, przygotowywaniu rycin. Pisała i przygotowywała manuskrypty.

Celem osiągnięcia naukowego (3 publikacje) pod wspólnym tytułem: „Ocena skojarzonego działania inhibitorów szlaków sygnałowych w hodowli ludzkich komórek białaczkowych.” była ocena:

➤ wpływu selektywnych niskocząsteczkowych inhibitorów ERK1/2 (VX-11e, AZD0364) w skojarzeniu z inhibitorami topoizomerazy II (voreloxin), czynnika transkrypcyjnego STAT3 (STA-21) oraz kinazy 3-fosfatydyloinozytolu PI3K (ZSTK474) na proliferację, przeżywalność, cykl komórkowy, stres oksydacyjny i apoptozę komórek linii białaczkowych.

Badania przeprowadzono na wyhodowanych komórkach linii: MOLM-14 (ostra białaczka szpikowa), REH (ostra białaczka limfoblastyczna z linii rozwojowej limfocytów B), MOLT-4 (ostra białaczka limfoblastyczna z linii rozwojowej limfocytów T) oraz K562 (przewlekła białaczka szpikowa).

➤ rodzaju interakcji pomiędzy stosowanymi inhibitorami (synergizm, addycja, antagonizm)

➤ mechanizmów komórkowych odpowiedzialnych za obserwowane efekty skojarzonego działania inhibitorów i ich wyjaśnienie.

Pierwsza praca z cyklu trzech przedstawionych do oceny:

„Combination of ERK2 inhibitor VX-11e and voreloxin synergistically enhances anti-proliferative and pro-apoptotic effects in leukemia cells” aut.: Ewa Jasek-Gajda, Halina Jurkowska, Małgorzata Jasińska, Jan A. Litwin, Grzegorz J. Lis opublikowana w czasopiśmie „Apoptosis” w roku 2019

dotyczyła oceny wpływu inhibitora ERK2 (VX-11e) i inhibitora tropoizomerazy II (voreloxin) na komórki białaczkowe linii MOLM14, REH, MOLT4 i K562. Badania wykazały, że VX-11e i voreloxin stosowane zarówno pojedynczo jak i w skojarzeniu hamują proliferację komórek w sposób zależny od dawki. Związki te w szerokim zakresie stężeń wywołują silne działanie synergistyczne na komórki linii MOLM14, REH, MOLT4, a na komórki linii K562 addytywne i antagonistyczne. Działanie synergistyczne w przypadku komórek linii K562 w hamowaniu proliferacji zauważono tylko w stężeniach odpowiadających wyznaczonym dla każdego inhibitora wartościom IC₅₀. Działanie synergistyczne badanych związków związane było z hamowaniem cyklu komórkowego (G0/G1), wzrostem poziomu białka p21 i spadkiem poziomu surwiwiny oraz Nf-kB powodując nasilenie apoptozy w komórkach linii MOLM14, REH, MOLT4.

Połączenie VX-11e i woreloksyny może wywierać synergistyczny efekt przeciwnowotworowy w komórkach białaczkowych.

Druuga praca :

„Combination of ERK2 and STAT3 Inhibitors Promotes Anticancer Effects on Acute Lymphoblastic Leukemia Cells.” aut.: Ewa Jasek-Gajda, Halina Jurkowska, Małgorzata Jasińska, Jan A Litwin, Grzegorz J Lis opublikowana w czasopiśmie „Cancer Genomics and Proteomics.” w roku 2020

miała na celu ocenę wpływu połączenia inhibitora ERK2 (VX-11e) i inhibitora STAT3 (STA-21) na linie komórkowe ostrej białaczki limfoblastycznej REH i MOLT-4. W badaniu linie komórkowe REH i MOLT-4 inkubowano z każdym lekiem osobno i w ich połączeniu. Żywotność komórek, aktywność ERK2, rozkład cyklu komórkowego, apoptozę i indukcję stresu oksydacyjnego oceniano metodą cytometrii przepływownej. Poziomy białka STAT3, fosfo-STAT3, białkowej fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PTP4A3), surwiwiny, p53 i p21 określono metodą western blotting.

Badanie wykazało, że VX-11e w połączeniu ze STA-21 znacząco hamował żywotność komórek, indukował zatrzymanie cyklu komórkowego G0/G1, wzmożoną produkcję reaktywnych form tlenu i indukowaną apoptozę. Efekty te były związane ze zwiększonym poziomem białka p21 w komórkach REH oraz obniżonym poziomem białek phospho-STAT3, surwiwiny i PTP4A3 w komórkach MOLT-4.

Cennym wnioskiem z badań jest fakt, że połączone hamowanie szlaków RAS/RAF/MEK/ERK i STAT3 może być użyteczne przy wzmocnieniu działania przeciwnowotworowego przeciwko komórkom ostrej białaczki limfoblastycznej

Trzecia praca:

„Targeting the MAPK/ERK and PI3K/AKT Signaling Pathways Affects NRF2, Trx and GSH Antioxidant Systems in Leukemia Cells”. Aut.: Ewa Jasek-Gajda, Halina Jurkowska, Małgorzata Jasińska, Grzegorz J Lis opublikowana w czasopiśmie „Antioxidants” w roku 2020 miała na celu zbadanie wpływu połączenia inhibitora ERK1/2 AZD0364 i inhibitora PI3K ZSTK474 na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL) REH, MOLT-4, ostrą białaczkę szpikową (AML) MOLM-14 i przewlekłą białaczkę szpikową (CML) linie komórkowe K562.

W celu oceny interakcji leków, komórki inkubowano przez 48 godzin z samym AZD0364 lub ZSTK474 i w połączeniu w ustalonych proporcjach. Efekty połączenia obu

inhibitorów były synergistyczne w szerokim zakresie stężeń w liniach komórkowych REH, MOLT-4 i MOLM-14. Jednak w komórkach K562 efekty okazały się antagonistyczne. Ponadto AZD0364 i ZSTK474 znacznie zmniejszyły aktywację zarówno ERK1/2, jak i AKT w komórkach REH, MOLT-4 i MOLM-14. Wyniki wykazały, że inkubacja zarówno z AZD0364, jak i ZSTK474 hamowała żywotność komórek, zwiększała produkcję reaktywnych form tlenu (ROS) i indukowała apoptozę w komórkach białaczkowych. Zaobserwowano, że leczenie skojarzone AZD0364 i ZSTK474 wpływało na poziom jądrowego czynnika- κ B (NF- κ B) i białka antyoksydacyjnego: czynnika 2 związanego z NF-E2 (NRF2), oksygenazy hemowej-1 (HO-1), tioredoksyny (Trx), reduktaza tioredoksynowa (TrxR) i zmniejszony stosunek glutation/utleniony glutation (GSH/GSSG). Efektom tym towarzyszył obniżony poziom antyapoptotycznego białka surwiwiny.

Wnioskiem z pracy był fakt, iż połączenie AZD0364 i ZSTK474 może wywierać synergistyczny efekt przeciwnowotworowy w komórkach ALL i AML, co jest związane z indukcją stresu oksydacyjnego i zaangażowaniem komórkowych mechanizmów obrony antyoksydacyjnej.

W mojej ocenie cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe Kandydatki jest opracowaniem kompleksowym. Zastosowane w nim metody i techniki badawcze nie budzą zastrzeżeń. Kryteria i analiza statystyczna zawarta w pracach w pełni odpowiadają wymogom warsztatu naukowego badacza tego typu problemów i są adekwatne do rozwiązania postawionych celów i interpretacji wyników badań.

Wyniki badań zawartych w 3 publikacjach składających się na osiągnięcie naukowe są spójne i w dużej mierze nowatorskie. Analizy prowadzone były konsekwentnie z zastosowaniem profesjonalnego warsztatu badawczego, który umożliwił uzyskanie interesujących i w niektórych aspektach pionierskich wyników.

Przedstawione w publikacjach wyniki badań mają znaczący wkład w rozumienie i poznanie efektu działania inhibitorów szlaków sygnałowych na komórki białaczkowe uzyskane w hodowli *in vitro* oraz otwierają drogę do kolejnych poszukiwań i badań naukowych. Przedłożone w tej formie osiągnięcie naukowe Kandydatki jest w pełni dojrzałe i kompletne.

Oceniam, iż osiągnięcie naukowe kandydatki do stopnia doktora habilitowanego dr Ewy Jasek- Gajdy stanowi znaczny wkład autorki w rozwój dyscypliny naukowej „nauki medyczne”

III. AKTYWNOŚĆ NAUKOWA REALIZOWANA W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ

W oparciu o załączoną do wniosku analizę bibliometryczną dr Ewa Jasek- Gajda ma znaczny dorobek naukowy obejmujący (po nadaniu stopnia doktora z wyłączeniem publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe) 28 publikacji w czasopismach z JCR z sumą IF 63,075. Głównym autorem jest 7 z nich. Cytowane one były (bez autocytowań) 183 razy, a współczynnik Hirscha to 9. Punkty MNiSW-1148

Cztery z w/w artykułów zostały opublikowane w czasopismach należących do Q1 (wg JCR).

Dorobek naukowy dr Ewy Jasek- Gajda po uzyskaniu stopnia doktora jest wartościowy i twórczy. Zakres tematyki badawczej jest oryginalny, ukierunkowany i konsekwentnie realizowany.

Kandydatka pracuje przede wszystkim nad oceną wpływu łączonego stosowania związków ukierunkowanych na różne cele molekularne w komórkach białaczkowych, co jest spójne z tematem Jej doktoratu i cyklu trzech publikacji przedstawionych jako osiągnięcie naukowe do stopnia doktora habilitowanego.

Inne wiodące kierunki Jej działalności naukowej to: biologiczne właściwości związków siarki /2 publikacje/, plastyczność synaptyczna w cyklu okołodobowym i uczeniu asocjacyjnym /6 publikacji/, histopatologia układu sercowo-naczyniowego (degeneracja wapniowa zastawki aortalnej, histologia i immunohistochemia blaszek miażdżycowych, histologia zmian w naczyniach tętniczych pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek /1 publikacja/, histopatologia unaczynienia ludzkiej przysadki mózgowej /1 publikacja/, badania regeneracji ubytków błony śluzowej jamy ustnej /2 publikacje/).

Dr Ewa Jasek- Gajda realizowała badania naukowe we współpracy z instytucjami naukowymi/uczelniami odmiennymi niż Jej uczelnia.

Udokumentowane staże, podczas których Kandydatka zdobywała doświadczenie naukowe:

- 2004-2006 – staż naukowy w Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) , Patologie et Virologie Moleculaires, Hospital St. Louis w Paryżu w ramach stypendiów naukowych przyznanych przez Institut national de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM), Region Ile-de-France oraz Societe Francaise du Cancer. Owocem stażu była praca doktorska i zdobyta wiedza oraz umiejętności.
- 2014 - miesięczny staż naukowy w INSERM U966- Inflammation, Chimiokines and Immunopathologie w Clamart we Francji

Udokumentowane staże, podczas których Kandydatka zdobywała doświadczenie naukowe, które zaowocowały wspólnymi międzyośrodkowymi publikacjami w czasopismach z JCR:

- 2012- tygodniowy pobyt w ośrodku badawczym HASYLAB/DESY w Hamburgu (Niemcy) zaowocował dwoma oryginalnymi publikacjami, których autorzy pochodzili z różnych ośrodków:
 - Distribution of selected elements in calcific human aortic valves studied by microscopy combined with SR- μ XRF: influence of lipids on progression of calcification. 2014r
 - Determination of oxidation state of iron in normal and pathologically altered human aortic valves 2015
- 2015-2016- współpraca z ośrodkiem badawczym w Singapurze, której owocem były dwa doniesienia zjazdowe (2016, 2017) na międzynarodowej konferencji w Ustroniu i warsztatach w Berlinie.
- Od roku 2013 współpraca z Instytutem Metalurgii i Inżynierii Materiałowej PAN w Krakowie czego owocem są 4 publikacje których współautorzy pochodzą z różnych ośrodków (2015, 2017, 2020, 2020)

Kolejną aktywnością naukową Kandydatki jest współautorstwo w rozdziale w monografii naukowej raz aktywne uczestnictwo (poster/doniesienie) w 18 zjazdach i konferencjach międzynarodowych i krajowych w Polsce i zagranicą (Austria, Niemcy, Wielka Brytania, Włochy, Czechy, Hiszpania)

Dr Ewa Jasek- Gajda uczestniczyła w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane na drodze konkursów krajowych w latach 2011-2015- (NCN) jako

główny wykonawca. W roku 2017 (NCBR) jako wykonawca zadania badawczego. Obecnie realizuje dwa kolejne projekty (NCBR) jako wykonawca zadania badawczego. Od roku 2009 była kierownikiem i wykonawcą 9 projektów finansowanych ze środków statutowych i subwencji na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego UJ CM

Za osiągnięcia naukowe Kandydatka otrzymała:

- ✓ w roku 2008 nagrodę „Young Histochemist Award” na międzynarodowym kongresie Histochemii i Cytochemii
- ✓ w roku 2009 nagrodę Rektora UJ CM za opublikowane prace w czasopiśmie z listy filadelfijskiej.

Oceniam, iż aktywność naukowa dr Ewy Jasek- Gajdy jest istotna i została zrealizowana w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej (w tym zagranicznej). Wyrazem wspomnianej aktywności są oryginalne publikacje naukowe z listy JCR, doniesienia zjazdowe (autorzy pochodzący z różnych ośrodków) oraz pobyt naukowy w innym niż macierzysty ośrodku.

IV. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA, ORGANIZACYJNA I POPULARYZUJĄCA NAUKĘ

dr Ewa Jasek- Gajda jako nauczyciel akademicki prowadzi od roku 2007 zajęcia z histologii i cytobiologii w języku polskim i angielskim ze studentami kierunku lekarskiego, lekarsko- dentystycznego, analityki medycznej, biofizyki. Była między innymi promotorem pracy licencjackiej, opiekowała się studenckim kołem naukowym przy Katedrze Histologii UJ CM w Krakowie, współpracuje z IFMSA – Poland. Bierze udział w Festiwalu Nauki w Krakowie. Za prace dydaktyczną otrzymała kilka nagród Rektora UJ.

Powyższe dane kwalifikuję jako wystarczające osiągnięcia Kandydatki w zakresie działalności dydaktycznej i organizacyjnej do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

V. WNIOSEK KOŃCOWY

W oparciu o informacje zawarte we wniosku dotyczące działalności naukowej oraz po zapoznaniu się z cyklem prac składających się na osiągnięcie naukowe pt. „Ocena skojarzonego działania inhibitorów szlaków sygnałowych w hodowli ludzkich komórek białaczkowych.” stwierdzam, że dr n. biol. Ewa Jasek- Gajda **spełnia wymogi** stawiane kandydatom do nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne. W związku z powyższym składam **wniosek** do Rady Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o **dopuszczenie** dr n. biol. Ewy Jasek- Gajdy do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Pedrycz-Wieczorska