



Wrocław, 2024.03.18

Prof. dr hab. Joanna Wietrzyk  
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN  
we Wrocławiu

**Recenzja dorobku naukowego w postępowaniu habilitacyjnym dr Małgorzaty Opydo  
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.  
Postępowanie prowadzone przez Radę Dyscypliny Nauki Biologiczne  
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.**

Pani dr Małgorzata Opydo posiada tytuł doktora nadany w dniu 19 czerwca 2007 roku uchwałą Rady Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, zatem zgodnie z art. 219 ust. 1 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Pani Dr Małgorzata Opydo może być dopuszczona do postępowania habilitacyjnego.

Dr Małgorzata Opydo jest obecnie zatrudniona na stanowisku adiunkta w Pracowni Hematologii Eksperymentalnej Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Stopień doktora nauk biologicznych uzyskała na tym samym Wydziale UJ pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Dąbrowskiego. Całą swoją pracę zawodową związała z tą uczelnią pracując na stanowisku asystenta (także w czasie realizacji pracy doktorskiej), a następnie adiunkta.

**Ocena osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego**

Podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego przez dr Małgorzatę Opydo (zgodnie z art. 219 ust. 2b) jest cykl artykułów objętych tytułem: „*Ocena aktywności przeciwbiałaczkowej mimetyków BH3 – selektywnych inhibitorów anty-apoptotycznych białek z rodziny BCL-2 w badaniach in vitro*”. Na ten cykl składają się cztery artykuły oryginalne i jeden przeglądowy opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym w latach 2016-2023. Czasopismo, w których opublikowano wyniki znajdują się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR). We wszystkich artykułach Kandydatka jest pierwszą autorką, jak również autorką korespondencyjną. Dołączone zaś oświadczenia dr Małgorzaty Opydo, jak i współautorów wyraźnie pokazują jej wiodącą rolę w ich powstawaniu, tj. zarówno koncepcji badań, prowadzeniu badań i ich interpretacji (w tym pisaniu publikacji). Podkreślić należy, że współautorów prac oryginalnych nie jest wielu, tj. od jednego do czterech.

Tematyka tych prac jest spójna i dotyczy badań nad możliwością zastosowania mimetyków BH3, jako potencjalnych leków przeciwbiałaczkowych. Apoptoza jest formą programowanej śmierci komórki, regulowanej przez równowagę pomiędzy proprzeżyciowymi i proapoptotycznymi białkami rodziny BCL-2. Unikanie zaś apoptozy jest cechą charakterystyczną komórek nowotworowych, która pojawia się, gdy równowaga zostaje przechylona na korzyść przeżycia. W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono opracowywaniu leków naśladujących BH3 (mimetyków BH3), jako potencjalnych leków przeciwnowotworowych, w taki sposób aby bezpośrednio aktywować mechanizm apoptozy w komórkach nowotworu. Leki te wiążą się i hamują specyficzne białka z rodziny BCL-2 sprzyjające przeżyciu, naśladując w ten sposób ich interakcję z domenami BH3 białek proapoptotycznych z rodziny BCL-2. Jeden z takich „mimetyków”, wenetoklaks, specyficzny inhibitor BCL-2, został zatwierdzony do leczenia przewlekłej białaczki limfatycznej i ostrej białaczki szpikowej. Leki naśladujące BH3 ukierunkowane na inne białka zapewniające przeżycie także zostały przetestowane w badaniach przedklinicznych, a leki ukierunkowane na MCL-1 lub BCL-XL weszły do prób klinicznych w przypadku niektórych nowotworów. Podobnie jak w przypadku wszystkich środków terapeutycznych, starannie wyważone muszą być skuteczność i toksyczność, aby osiągnąć okno

ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, kontakt: 71 370 99 30, 71 370 99 38, [www.hirszfeld.pl](http://www.hirszfeld.pl)

Centrum Doskonałości IMMUNE





terapeutyczne, przy którym występuje znaczące działanie przeciwnowotworowe przy akceptowalnym profilu bezpieczeństwa. W piśmiennictwie pojawiają się także dane dotyczące pierwotnej i nabytej oporności na te substancje. W związku z tym bardzo istotne są dalsze badania, aby zapewnić postęp w zastosowaniu klinicznym leków naśladujących BH3, zarówno samych, jak i w połączeniu z innymi lekami przeciwnowotworowymi (na przykład standardowymi lekami chemioterapeutycznymi), w celu poprawy odpowiedzi u pacjentów chorych na nowotwory złośliwe. Badania prowadzone przez dr Małgorzatę Opydo mocno wpisują się więc w te wyzwania i próby ich przewyciężenia.

Wobec tego uważam, iż tematyka badawcza dr Małgorzaty Opydo jest niezwykle istotna i wpisuje się w nurt najnowszych osiągnięć naukowych w tej dziedzinie.

W skład osiągnięcia, oprócz prac oryginalnych, wchodzi praca przeglądowa, od której rozpoczną ich omawianie. Jest to przegląd literatury pochodzący z 2017 roku (*Biochemical Pharmacology*), a więc już raczej nieaktualny. Oczywiście nie można odmówić tej publikacji tego, iż zawierała kompletne wówczas informacje dotyczące omawianej dziedziny i z pewnością pomogła Kandydatce uporządkować swoją wiedzę i zaplanować dalsze badania. Praca ta jest również źródłem dobrze podsumowanych wiadomości dla innych autorów, gdyż jest najczęściej cytowaną publikacją Kandydatki. Zawiera ona dobrze uporządkowany zbiór danych, także umieszczonych w tabelach i na schematach, na temat mimetyków BH3, mechanizmów ich działania, także toczących się badań klinicznych z ich udziałem, a co ważniejsze, dalszych perspektyw rozwoju tych potencjalnych leków. Ogólnie więc uważam tą pracę za bardzo cenną, natomiast moje uwagi o jej nieaktualności są tylko wynikiem tego, iż po wstępnym zapoznaniu się z dokumentacją założyłam, że będzie to aktualna praca przeglądowa, podsumowująca nie tylko światową wiedzę w tym temacie, ale także dokonania Kandydatki.

Pierwszą publikacją oryginalną włączoną w skład osiągnięcia Habilitantki jest praca opublikowana w 2016 roku w *Tumor Biol.* (praca dwuautorska) pt. **Comparison of in vitro antileukemic activity of obatoclax and ABT-737**. Kandydatka za cel naukowy powzięła zbadanie i porównanie działania przeciwbiałaczkowego obatoklaksu i ABT-737 stosowanych samodzielnie oraz w połączeniu z lekami przeciwnowotworowymi, mafosfamidem i daunorubicyną. Były to badania *in vitro* z wykorzystaniem komórek czterech linii ludzkich białaczek. Kandydatka dowiodła, że badane związki znacząco zmniejszały żywotność komórek białaczkowych i synergistycznie wzmacniały działanie cytotoksyczne indukowane przez mafosfamid i daunorubicynę. Przy czym obatoklaks był aktywniejszy niż ABT-737 w hamowaniu żywotności komórek białaczkowych. Interesująco, ABT-737 w połączeniu z lekami przeciwnowotworowymi indukował apoptozę skuteczniej niż obatoklaks, gdy był podawany w tym samym schemacie. Wyniki te wskazują więc na zróżnicowane działanie przeciwbiałaczkowe obatoklaksu i ABT-737, stosowanych samodzielnie oraz w połączeniu z lekami przeciwnowotworowymi. Ponieważ obatoklaks jest pan-inhibitorem BCL-2, zaś ABT-737 wykazuje duże powinowactwo do BCL-2, BCL-xL i BCL-W i niskie do MCL-1, badania te zaliczyć można do jednego z nurtów badań, które Autorka wskazała jako istotne w swojej pracy przeglądowej. A mianowicie ustalenie, jaki jest związek pomiędzy selektywnością mimetyczną BH3 a ich skutecznością terapeutyczną, w tym ustalenie, czy wysoce selektywne mimetyki lub mimetyki pan-BH3 zapewniają lepszą korzyść kliniczną.

Publikacja nr 2 ujęta w cyklu, to praca pt. **Combination of ABT-737 and resveratrol enhances DNA damage and apoptosis in human T-cell acute lymphoblastic leukemia MOLT-4 cells** opublikowana w *Toxicology in vitro*. Te badania, przeprowadzone na komórkach linii MOLT-4 dotyczą także aktywności skojarzonego stosowania mimetyków BH3, z tym, że w tych badaniach, jako partnera w tym skojarzeniu użyto resweratrol, znany flawonoid o działaniu uszkodzającym DNA i aktywującym apoptozę w komórkach różnych typów nowotworów. MOLT-4 to komórki ostrej białaczki limfatycznej najbardziej wrażliwe na działanie ABT-737 spośród badanych komórek linii białaczek opisanych w poprzedniej publikacji. ABT-737 jako jedyny inhibitor BH3 oceniono w ramach badań ujętych w publikacji 2. Wyniki tych badań, to nowe dane pokazujące, że ABT-737 w połączeniu z resweratrolem znacząco obniża żywotność komórek, zwiększa uszkodzenia DNA, powoduje zaburzenia cyklu komórkowego i synergistycznie nasila apoptozę w komórkach MOLT-4 w

ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, kontakt: 71 370 99 30, 71 370 99 38, [www.hirszfeld.pl](http://www.hirszfeld.pl)

Centrum Doskonałości IMMUNE





porównaniu z pojedynczo zastosowanymi związkami. Istotnym wnioskiem z przeprowadzonych badań jest to, że jednoczesne traktowanie komórek białaczkowych ABT-737 i resweratrolem spowodowało zmniejszenie potencjału błony mitochondrialnej, wzrost poziomu białka p53 i zwiększenie stosunku Bax/Bcl-2. Uzyskane dane wskazują, że połączenie ABT-737 i resweratrolu jest obiecujące, choć oczywiście w przypadku tej publikacji ograniczone do jednej linii komórek nowotworowych. Niemniej jednak wyniki tych analiz wskazują nowe kierunki, w których warto prowadzić dalsze badania.

Kontynuacją obserwacji zanotowanych w publikacji nr 1, jest także praca nr 3 opublikowana w *Invest New Drugs* pt. **The pan-Bcl-2 inhibitor obatoclax promotes differentiation and apoptosis of acute myeloid leukemia cells**. Tutaj Kandydatka również skupia swoje badania na jednej tylko linii komórek białaczkowych, HL-60 – ostrej białaczki szpikowej – analizując pro-różnicujące (i tą drogą prowadzące do apoptozy) działanie obatoklaksu. Terapie oparte na indukcji różnicowania i apoptozy wpisują się w nowe strategie w leczeniu nowotworów u ludzi. Uzasadnienie tego opiera się na koncepcji zakładającej, że głównymi mechanizmami onkogenezy są upośledzenie różnicowania i apoptozy, a także niekontrolowana proliferacja. Jak dotąd najlepszym przykładem terapii indukującej różnicowanie i apoptozę jest leczenie ostrej białaczki promyelocytowej z wykorzystaniem kwasu całkowicie trans-retinowego (ATRA) i związków arsenu, przynoszące bardzo dobre wyniki u pacjentów. Tak więc odkrycie przez Kandydatkę faktu, że również obatoklaks może cechować się podobnym mechanizmem działania jest bardzo cenne. Szkoda tylko, że Kandydatka w tych badaniach ograniczyła się do jednej tylko linii komórkowej i jednego związku naśladującego BH3. Niemniej jednak, dla tej linii komórek AML i obatoklaksu, dr Małgorzata Opydo udowodniła w cyklu dobrze dobranych eksperymentów nowy mechanizm działania tego związku w komórkach HL-60 oparty o indukcję różnicowania prowadzącą do apoptozy.

W badaniach zamkniętych publikacją 4 pt. **Synergistic Action of MCL-1 Inhibitor with BCL-2/BCL-XL or MAPK Pathway Inhibitors Enhances Acute Myeloid Leukemia Cell Apoptosis and Differentiation** (*Int J Mol Sci*, 2023) Kandydatka zawarła chyba najciekawsze wyniki swoich badań. Jak wiadomo, zwiększona ekspresja białka antyapoptotycznego MCL-1 ma kluczowe znaczenie dla trwałego przeżycia i ekspansji komórek AML, a Kandydatka w swoich wcześniejszych badaniach również wskazywała istotną rolę tego białka we wrażliwości komórek nowotworowych na poszczególne mimetyki BH3, zwłaszcza ABT-737 (publikacja 1). Wobec tego dr Małgorzata Opydo zaplanowała i wykonała badania, w których zastosowała S63845, specyficzny inhibitor MCL-1, samodzielnie i łącznie z inhibitorem BCL-2/BCL-XL, ABT-737, wobec komórek dwóch linii AML: HL-60 i ML-1. Analizowała także udział szlaku MAPK we wrażliwość komórek AML na S63845. Wykazała, że S63845 powodował zależne od stężenia zmniejszenie żywotności komórek HL-60 i ML-1 oraz zwiększał odsetek komórek ulegających apoptozie. Łączne użycie S63845 z ABT-737 lub z inhibitorem szlaku MAPK wzmagało apoptozę, ale także indukowało różnicowanie badanych komórek, co wydaje się istotnym nowo odkrytym mechanizmem działania takiej kombinacji inhibitorów. Również i te badania, stanowią podstawę dla rozszerzenia badań dotyczących stosowania inhibitora MCL-1 w połączeniu z innymi inhibitorami białek sprzyjających przeżyciu.

Podsumowując, Kandydatka wykonała i opublikowała cykl badań mających na celu pokazać nowe mechanizmy działania mimetyków BH3 wobec komórek białaczkowych, a także wykazać możliwość ich łącznego zastosowania z innymi związkami o działaniu przeciwnowotworowym, w tym ze znanymi lekami. Taka strategia może mieć na celu nie tylko poprawę efektywności terapeutycznej przy jednoczesnym obniżeniu toksyczności, ale także może pomóc w omijaniu lub opóźnianiu nabywania lekooporności przez komórki nowotworowe. Są więc to cenne badania wpisujące się w aktualne i ważne nurty badań naukowych w onkologii. Na podstawie przedstawionej analizy zaproponowanego przez Kandydatkę do stopnia doktora habilitowanego cyklu publikacji, stwierdzam, że są to wartościowe, spójne badania, które istotnie przyczyniają się do poszerzenia wiedzy w temacie eksplorowanym przez Kandydatkę.



### **Istotna aktywność naukowa albo artystyczna realizowana w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, szczególnie zagranicznej**

Jako „istotną aktywność naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej” dr Małgorzata Opydo prezentuje trzy krótkoterminowe staże naukowe. Najdłuższy, miesięczny staż Kandydatka odbyła dzięki uzyskanemu finansowaniu z programu SET w Zakładzie Biochemii, Biologii Molekularnej i Komórkowej Uniwersytetu w Saragossie w Hiszpanii. Oprócz nabytej wiedzy praktycznej, wynikiem pobytu w tym ośrodku była wspólna praca przeglądowa ujęta jako publikacja 5 w prezentowanym osiągnięciu. Dr Małgorzata Opydo odbyła także tygodniowy staż w Słowacji oraz w Kielcach. Owocem tych staży były wspólne doniesienia konferencyjne oraz publikacje. W mojej opinii odbyte staże spełniają wymóg Ustawy, dodatkowo Kandydatka opisuje swoją determinację, przerwana pandemią, dla odbycia kolejnych staży zagranicznych.

### **Ocena pozostałego dorobku naukowego, aktywności naukowej i innych aktywności**

Pozostałe publikacje dr Małgorzaty Opydo to 3 publikacje przeglądowe oraz 20 prac oryginalnych. Dodatkowo Kandydatka opublikowała 2 rozdziały w monografiach. W 4 spośród wspomnianych pozycji jest 1-szą autorką, w wielu jest autorką drugą. Opublikowała także kilka prac w czasopismach spoza listy JCR (6 publikacji z pierwszym lub jedynym autorstwem) oraz artykuł popularnonaukowy. Ogólnie Kandydatka jest pierwszym lub korespondencyjnym autorem w 17 spośród tych wszystkich prac. Są to publikacje tematycznie związane z Jej pracą doktorską, poszukiwaniem nowych substancji o działaniu przeciwnowotworowym i inne związane z tematyką projektów badawczych w realizacji których uczestniczy lub uczestniczyła. Wartym podkreślenia jest duża otwartość Kandydatki na współpracy z różnymi ośrodkami/naukowcami z kraju i z zagranicy. Przykładem jest współpraca z firmą NIOMECH przy Uniwersytecie Bielefeld w Niemczech, w wyniku której opublikowano 8 publikacji, w których Kandydatka często (5 publikacji) jest 1-szą autorką. W ramach tej współpracy powstały także 2 prace przeglądowe. Badania te dotyczyły oceny mechanizmów działania kilku związków alkilujących, w tym mafosfamidu w komórkach ostrych białaczek, co ma także silny związek z Jej osiągnięciem naukowym i pokazuje znaczną spójność zainteresowań naukowych Kandydatki. Również inne badania dotyczące aktywności przeciwnowotworowej np. nowych pochodnych antybiotyków antracyklinowych i innych związków chemicznych wobec komórek białaczkowych prowadzone we współpracy z ośrodkami z Polski (np. Instytut Biotechnologii i Antybiotyków w Warszawie czy inne wydziały UJ) ma silne powiązania z tematyką ocenianego osiągnięcia naukowego Habilitantki.

Co istotne, obecnie dr Małgorzata Opydo kontynuuje badania, które zaprezentowała w swoim osiągnięciu w ramach grantu Naukowej Fundacji Polfarmy, którego jest kierownikiem. W tym projekcie, oprócz kontynuowania badań dotyczących terapii skojarzonej mimetykami BH3, tutaj z przeciwciałami monoklonalnymi, planuje znacznie poszerzyć swój warsztat badawczy o hodowle 3D, a także ko-hodowle komórek białaczkowych z komórkami podścieliska szpiku kostnego. Jest to z pewnością niezwykle ważne z punktu widzenia dalszego pogłębiania wiedzy na temat mechanizmów działania mimetyków BH3, także w kontekście ich wpływu na podścielisko szpiku kostnego i wzajemne oddziaływania komórek w tym środowisku.

Dr Małgorzata Opydo, oprócz kierowania projektem Miniatura NCN oraz projektem Naukowej Fundacji Polfarmy, co pokazuje jej samodzielność naukową, ale także skuteczność w pozyskiwaniu środków na własne badania, uczestniczy lub uczestniczyła w realizacji innych projektów kierowanych przez dr hab. Elżbietę Kołaczkowską.

Podsumowując, dr Małgorzata Opydo jest aktywnym naukowcem o ściśle sprecyzowanych zainteresowaniach naukowych, które realizuje konsekwentnie, zarówno współpracując z innymi naukowcami, jak i zdobywając wsparcie finansowe swoich badań z niezależnych instytucji grantowych. Wykonane przez Kandydatkę badania, zarówno opisane w osiągnięciu, jak i te pozostałe świadczą o bardzo dobrym warsztacie naukowym, a także dają pole do dalszego rozwoju, co Kandydatka świetnie opisała w rozdziale „Plany badawcze” wniosku



habilitacyjnego. Opisane plany są bardzo ambitne, ale nie mogłyby powstać bez tej pracy, którą Kandydatka wykonała dotychczas, co niezwykle doceniam.

#### **Ocena działalności organizacyjnej i dydaktycznej**

Dr Małgorzata Opydo jest bardzo aktywna w części dydaktycznej swojej działalności. Prowadzi szereg zajęć dla studentów I-III stopnia na kierunku biologia, opiekuje się pracami magisterskimi (13) i licencjackimi (10), jest także koordynatorem obowiązkowych zawodowych praktyk studenckich. Była także członkiem Zespołu ds. Ewaluacji Efektów Kształcenia na kierunku biologia (UJ). Wszystkie te czynności wymagają dużego zaangażowania, także jeśli chodzi o czas temu poświęcony. Wydaje się ponadto, iż dr Małgorzata Opydo wykonuje te zadania z pasją, podnosząc swoje kwalifikacje na różnych kursach i szkoleniach (opisanych we wniosku habilitacyjnym).

Wysoko oceniam również działalność organizacyjną dr Małgorzaty Opydo, którą realizuje nie tylko w swojej jednostce macierzystej, ale także poza UJ, pełniąc funkcję sekretarza Komisji Biologicznej Oddziału Krakowskiego PAN (dwie kadencje). W ramach tej działalności współorganizowała międzynarodowe konferencje i ogólnopolskie seminaria. Jest także członkiem Zarządu Oddziału Krakowskiego Polskiego Towarzystwa Biologii Komórki (dwie kadencje).

Podkreślić chcę także jej wysoką aktywność w zakresie popularyzacji nauki realizowaną w ramach Festiwalu nauki, Małopolskiej Nocy Naukowców, Nocy Biologów czy projektu pt. Chmura Edukacyjna – nowy model nauczania” oraz pt. „Rozwiń skrzydła – nieograniczone możliwości” i inne.

#### **Wnioski końcowe**

Na podstawie złożonej dokumentacji stwierdzam, że zarówno badania zgłoszone jako osiągnięcie naukowe, jak i pozostałe dokonania naukowe Pani dr Małgorzaty Opydo, wnoszą znaczący i oryginalny wkład do rozwoju nauki, zaś dorobek naukowy Habilitantki uległ znaczącemu wzbogaceniu w okresie po doktoracie. Tematyka i zakres badań naukowych, które dr Małgorzata Opydo zaprezentowała jako osiągnięcie naukowe, jest niezwykle aktualna, a uzyskane wyniki wnoszą znaczący wkład w poszerzenie wiedzy w tym obszarze. Jej zaangażowanie w działalność dydaktyczną i organizacyjną dopełniają pozytywny obraz Pani dr Małgorzaty Opydo jako w pełni samodzielnego i aktywnego naukowca. Pani dr Małgorzata Opydo na wszystkich polach swojej działalności naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej spełnia wymagania stawiane kandydatom ubiegającym się o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego zapisane w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), dlatego popieram zgłoszony przez dr Małgorzatę Opydo wniosek w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

*Prof. dr hab. Joanna Wietrzyk*  
Kierownik Laboratorium  
Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej