

## Ocena

osiągnięć naukowych, aktywności naukowej, dydaktycznej oraz współpracy naukowej Pani dr Martyny Krzykawskej-Serda w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w **dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne**, wykonana na podstawie decyzji Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego.

### Informacje podstawowe

Pani dr Martyna Krzykawska-Serda jest adiunktem na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Tytuł doktora nauk biologicznych ze specjalizacją z biofizyki uzyskała z wyróżnieniem, na tym samym wydziale, w 2013 roku, na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Przeciwnowotworowa terapia fotodynamiczna z zastosowaniem pochodnej bakteriochloryny. Wybrane efekty komórkowe, naczyniowe i immunologiczne”.

Jednocześnie Pani dr Martyna Krzykawska-Serda jest konsultantem w Zakładzie Onkologii Radiacyjnej i Komórkowej Uniwersytetu Chicago, IL, USA (Dept. of Radiation and Cellular Oncology, The University of Chicago, Chicago, USA).

Przedstawiona ocena została przeprowadzona na podstawie następujących materiałów: autoreferatu, wykazu osiągnięć naukowych, kopii prac naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe oraz oświadczeń współautorów.

### Ocena formalna

Przedstawione do oceny materiały, stanowiące podsumowanie dorobku naukowo-badawczego, dydaktycznego oraz współpracy naukowej Pani dr Martyny Krzykawskej-Serda, zostały bardzo starannie przygotowane i w mojej ocenie spełniają kryteria określone w art. 219 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018r.

### Ocena merytoryczna

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe pt. „Nowe spojrzenie na metody obrazowania do planowania i prowadzenia wieloczynnikowego leczenia przeciwnowotworowego” stanowi cykl ośmiu oryginalnych prac, opublikowanych w latach 2017-2021r. Sumaryczny współczynnik oddziaływania w/w prac wynosi: IF= 26,5. Współautorzy artykułów złożyli oświadczenia, w których potwierdzili dominujący wkład dr Martyny Krzykawskej-Serda w opracowanie koncepcji badań, projektowanie doświadczeń, wykonanie doświadczeń i przygotowanie manuskryptu.

W skład cyklu wchodzi następujące prace:

1. Matthew J Ware, Martyna Krzykawska-Serda, Jason Chak-Shing Ho, Jared M Newton, Sara Suki, Justin J Law, Lam Nguyen, Vasrik Keshishian, Maciej Serda, Kimberly Taylor, Steven

A Curley, Stuart J Corr: *Optimizing non-invasive radiofrequency hyperthermia treatment for improving drug delivery in 4T1 mouse breast cancer model. Scientific Reports* **2017**, *7*, p.43961; DOI: [10.1038/srep43961](https://doi.org/10.1038/srep43961)

2. Norman A Lapin, Martyna Krzykawska-Serda, Sean Dilliard, Yuri Mackeyev, Maciej Serda, Lon J Wilson, Steven A Curley, Stuart J Corr: The effects of non-invasive radiofrequency electric field hyperthermia on biotransport and biodistribution of fluorescent [60] fullerene derivative in a murine orthotopic model of breast adenocarcinoma. *Journal of Controlled Release* **2017**, *260*, p.92-99; DOI: [10.1016/j.jconrel.2017.05.022](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.05.022)
3. Martyna Krzykawska-Serda, Mahdi. S. Agha, Jason Chak-Shing Ho, Matthew J. Ware, Justin Law, Jared M. Newton, Lam Nguyen, Steven A. Curley, and Stuart J. Corr: Chemotherapy and radiofrequency induced hyperthermia combinatory treatment of orthotopic xenograft of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Translational Oncology* **11** (3) **2018**, p.664-671; DOI: [10.1016/j.tranon.2018.02.023](https://doi.org/10.1016/j.tranon.2018.02.023)
4. Martyna Krzykawska-Serda, Jason Chak-Shing Ho, Matthew J Ware, Justin J Law, Jared M Newton, Lam Nguyen, Mahdi S. Agha, Steven A Curley, Stuart J Corr: Ultrasound Doppler as an imaging modality for selection of murine 4T1 breast tumors for combination radiofrequency hyperthermia and chemotherapy. *Translational oncology* **2018**, *11* (4), p.864-872; DOI: [10.1016/j.tranon.2018.04.010](https://doi.org/10.1016/j.tranon.2018.04.010)
5. Boris Epel, Martyna Krzykawska-Serda, Victor Tormyshev, Matthew C Maggio, Eugene D Barth, Charles A Pelizzari, Howard J Halpern: Spin Lattice Relaxation EPR pO<sub>2</sub> Images May Direct the Location of Radiation Tumor Boosts to Enhance Tumor Cure. *Cell Biochemistry and Biophysics* **2017**, *75*(3-4), p.295-298; DOI: [10.1007/s12013-0170825-2](https://doi.org/10.1007/s12013-0170825-2)
6. Martyna Krzykawska-Serda, Dariusz Szczygieł, Szymon Gawęł, Agnieszka Drzał, Małgorzata Szczygieł, Maciej M. Kmiec, Andrzej Mackiewicz, Claudine Kieda, Martyna Elas: Oxygen therapeutic window induced by myo-inositol trispyrophosphate (ITPP) – local pO<sub>2</sub> study in murine tumors. *Plos One* **2023**, *18* (5), e0285318; DOI: [10.1371/journal.pone.0285318](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285318)
7. M. Krzykawska-Serda, R. Miller, M. Elas, B. Epel, E. Barth, M. Maggio, H. Halpern: Correlation Between Hypoxia Proteins and EPR-detected Hypoxia in Tumors. In: Halpern H., LaManna J., Harrison D., Epel B. (eds) *Oxygen Transport to Tissue XXXIX. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer **2017**, Cham. p.319-325; DOI: [10.1007/978-3-319-55231-6\\_42](https://doi.org/10.1007/978-3-319-55231-6_42)
8. Aleksandra Bienia, Olga Wiecheć-Cudak, Aleksandra A. Murzyn, Martyna Krzykawska-Serda: Photodynamic therapy and hyperthermia in combination treatment—Neglected forces in the fight against cancer. *Pharmaceutics* **13** (8) **2021**, p.1147; DOI: [10.3390/pharmaceutics13081147](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081147)

Wszystkie prace cyklu powstały po uzyskaniu stopnia doktora przez Panią dr Martynę Krzykowską-Serda i dotyczą zagadnień nie związanych z rozprawą doktorską. Prace te powstały w ramach kilku projektów badawczych zagranicznych oraz krajowych: Physical Sciences in Oncology Center: Center for Transport Oncophysics (NIH, U54 CA143837) realizowany w Baylor College of Medicine; Radiation Biology of EPR Oxygen Images (NIH, R01 CA98575) realizowany w Chicago University; Very Low Frequency EPR Imaging for In Vivo Physiology (NIH/NIBIB, P41 EB002034-15) realizowany w Chicago University; OPUS 23 2022/45/B/NZ5/01695 realizowany na UJ oraz OPUS 15 2018/29/B/NZ5/02954 realizowany na UJ.

Celem badań prowadzonych przez Panią Doktor w ramach osiągnięcia naukowego była ocena możliwości wykorzystania obrazowania fizjologicznego guzów u myszy w celu zaplanowania, a następnie monitorowania postępów kombinowanej terapii przeciwnowotworowej. W trakcie badań uzyskała wyniki, które pozwoliły na sformułowanie przez Kandydatkę następujących wniosków, cytuję:

1. Umiarkowana miejscowa hipertermia może spowodować 30-40% wzrost akumulacji cząsteczek fluorescencyjnych w ortotopowych guzach nowotworowych w porównaniu do zwierząt nie poddanych działaniu podwyższonej temperatury. Zastosowanie fal radiowych do indukcji hipertermii zdaje się być znacznie bezpieczniejsze dla tkanek otaczających guz, w porównaniu do hipertermii kontaktowej.
2. Wykazaliśmy, że umiarkowana hipertermia może istotnie zwiększyć przepuszczalność nowotworowych oraz prawidłowych naczyń krwionośnych. Co ważne, wzrost przepuszczalności naczyń jest około czterokrotnie większy dla naczyń zasocjowanych z nowotworem, w porównaniu do naczyń prawidłowych.
3. Terapia kombinowana (Gemcytabina, Abraxan®, umiarkowana hipertermia) kierowana obrazem morfologicznym wykonanym za pomocą ultrasonografii przynosi tylko krótkoterminowe korzyści terapeutyczne, podczas gdy długoterminowe obserwacje nie wskazują na znacząco dłuższe przeżycie myszy obciążonych ortotopowym nowotworem trzustki.
4. Obrazowanie funkcjonalne przepływu w krwi za pomocą ultrasonografii pozwala na wyznaczenie kohorty myszy obciążonych ortotopowymi nowotworami piersi, które mogą odnieść korzyść z prekondukcjonowania hipertermią, przed podaniem chemioterapii (Gemcytabina, Abraxan®). Guzy o niskiej zawartości funkcjonalnego unaczynienia przed leczeniem, odpowiadały zwiększeniem przepływu w tkance na skutek umiarkowanej hipertermii.
5. Wykazaliśmy, że elektronowy rezonans paramagnetyczny dostarcza informacji o ciśnieniu parcjalnym tlenu w tkance, które koreluje się z molekularnymi identyfikatorami hipoksji takimi jak HIF-1 $\alpha$ . Frakcja hipoksyczna (HF10) badanej mysiej fibrosarkomy, wyznaczona za pomocą tlenometrii EPR, z dużym prawdopodobieństwem będzie posiadała zwiększone stężenie białek takich jak HIF-1 $\alpha$ , CaIX oraz GLUT-1.

6. Indywidualizowana radioterapia celowana w obszary hipoksyczne powoduje wzrost częstości wyleczeń badanych nowotworów mysich

7. Obszary hipoksyczne w nowotworze odpowiadają przejściowym lub długoterminowym wzrostem ciśnienia parcjalnego tlenu na skutek ogólnoustrojowego podania trispiryfosforanu myo-inozytolu (ITPP). Jednocześnie obszary normoksyczne nowotworu nie odpowiadają istotnymi zmianami ciśnienia parcjalnego tlenu w tkance.

8. Wykazaliśmy na podstawie przeglądu literatury, że zarówno hipertermia, jak i terapia fotodynamiczna (PDT) nowotworów, mogą przynosić podobne efekty, takie jak uszkodzenia komórek i tkanek nowotworowych, wpływ na strukturę i funkcję naczyń krwionośnych oraz aktywacja układu immunologicznego. Dodatkowo, wskazaliśmy duży potencjał hipertermii i PDT jako terapii wspomagających leczenie w terapii wieloczynnikowej.

Pomimo ogromnemu postępowi dokonanemu w medycynie w dziedzinie onkologii, istnieje jeszcze szereg zagadnień wymagających prowadzenia dalszych badań naukowych. Jednym z takich zagadnień jest zwiększenie skuteczności stosowanych terapii przeciwnowotworowych. Pomimo wykorzystania w praktyce klinicznej bardzo precyzyjnych urządzeń np. akceleratorów liniowych wykorzystywanych w radioterapii, stosowania specjalnych nośników (liposomy i nanocząsteczki polimerowe) pozwalających na dotarcie leku wprost do guza czy w końcu konstruowaniu leków specyficznym rozpoznających cele terapeutyczne na powierzchni komórek nowotworowych, ciągle w zdecydowanej większości przypadków nie jesteśmy w stanie dotrzeć do wszystkich komórek nowotworowych i je zniszczyć. Pozostające przy życiu komórki nowotworowe odpowiedzialne są za późniejszą wznowę i progresję choroby nowotworowej. Przyczyny tych niepowodzeń są bardzo różne i wynikają m.in. z nieprawidłowej budowy nowotworowych naczyń krwionośnych, wysokiego ciśnienia śródmiąższowego, niskiego pH macierzy pozakomórkowej lub powstałą lekoopornością komórek. Istnieje zatem pilna potrzeba opracowania nowych, bardziej wydajnych rozwiązań, pozwalających na zwiększenie wydajności stosowanych terapii.

Zaprezentowany przez Panią dr Martyna Krzykawska-Serda cykl prac jest właśnie przykładem takich badań. W swoich badaniach Pani Doktor szczególną uwagę poświęciła nieprawidłowym naczyniom nowotworowym i obszarom hipoksji w guzie. Habilitantka bardzo słusznie założyła, że poprawa funkcjonalności naczyń nowotworowych może przyczynić się do zwiększenia wydajności chemioterapii czy radioterapii. Normalizacja naczyń nowotworowych polegająca m.in. na poprawie ich funkcjonalności istotnie wpływa na tzw. mikrośrodowisko guza. Przekształca je z mikrośrodowiska o charakterze proangiogenne i immunosupresyjnego w antyangiogenne i immunostymulacyjne. Ta zmiana charakteru mikrośrodowiska sprzyja stosowanym terapiom, podnosi ich wydajność m.in. przez podniesienie utlenowania guza i zmniejszenie rejonów hipoksji. Wydaje się, że wykorzystana w badaniach umiarkowana hipertermia może normalizować naczynia nowotworowe i tym samym poprawiać efekt chemio i radioterapii.

Innym bardzo istotnym zagadnieniem jest stosowanie odpowiednich terapii w procesie leczenia. Wykorzystanie jednej terapii jest mało efektywne. Dużo lepszym rozwiązaniem jest terapia kombinowana, oparta o różne strategie terapeutyczne np. chemioterapia skojarzona

z radioterapią czy immunoterapią. Należy również pamiętać, że celem terapeutycznym nie muszą być jedynie komórki nowotworowe, mogą nim być również komórki prawidłowe tworzące mikrośrodowisko guza np. komórki śródbłonkowe naczyń, fibroblasty, makrofagi. Niszcząc naczynia nowotworowe pośrednio zabijamy komórki nowotworowe.

Stosowanie terapii hamujących wzrost naczyń nowotworowych, bądź je niszczących, wymaga jednak bardzo czułych technik obrazowania. Dynamika procesów zachodzących w guzie w trakcie terapii wymaga ich ciągłego monitorowania i oceny. Niezwykle ważna jest precyzyjne określenie stanu mikrośrodowiska guza, a następnie decyzja o kontynuowaniu terapii, bądź jej zaprzestaniu. Umiejętna ocena stanu mikrośrodowiska guza przed rozpoczęciem leczenia i następnie w jego trakcie, jest kluczowa i odpowiada za powodzenie zastosowanej terapii. Całkowicie podzielam pogląd Pani Doktor, że rozwijające się obecnie bardzo szybko techniki obrazowania tj.: magnetyczny rezonans jądrowy (MRI), tomografia komputerowa (CT), ultrasonografia (USG) oraz tomografia emisyjna pozytonów (PET) mogą dostarczyć wielu cennych informacji o rozwoju choroby nowotworowej i efektów stosowanych terapii.

Podsumowując analizę cyklu publikacji, uważam że wyniki badań spełniają kryteria osiągnięcia naukowego, a podjęta tematyka badawcza jest oryginalna i istotna z perspektywy badań podstawowych, jak również praktyki klinicznej. Moim zdaniem bardzo ważne, są przedstawione przez Panią Doktor plany badawcze na przyszłość, cytuję: „Długoterminowym celem moich badań jest stworzenie narzędzi diagnostycznych (zdefiniować fizjologiczne odciski palców) pozwalających w sposób nieinwazyjny zaplanować i przeprowadzić terapię wieloczynnikową w oparciu o parametry fizjologiczne konkretnego nowotworu”. Na tej podstawie mogę stwierdzić, że przedstawiony przez Habilitantkę cykl prac nie służy jedynie do osiągnięcia celu, jakim jest stopień doktora habilitowanego, ale stanowi jeden z etapów badań, których ostatecznym celem będzie opracowanie narzędzia służącego do oceny stanu procesu nowotworzenia, na podstawie której dokonany zostanie wybór najkorzystniejszego dla pacjenta rozwiązania terapeutycznego tzw. terapii personalizowanej.

### **Ocena aktywności naukowej**

Dorobek naukowy Pani dr Martyny Krzykawskej-Serda z wyjątkiem prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, stanowi 20 publikacji (3 publikacje przed uzyskaniem stopnia doktora) oraz rozdziałów w trzech monografiach naukowych. Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF jest wysoki i wynosi **104,58**. Całkowita liczba cytowań bez autocytowań wynosi **338** a Indeks Hirscha; **10** (Web of Science, 4.09.2023). Pani doktor zaprezentowała osiem referatów oraz jedenastkę prezentacji plakatowych na międzynarodowych konferencjach.

**W mojej ocenie, przedstawiony dorobek naukowy spełnia kryteria stopnia dra. habilitowanego.**

Oceniając całościowo dorobek Pani dr Martyny Krzykawskej-Serda stwierdzam, że posiada ona duże doświadczenie w badaniach doświadczalnych w obszarze onkologii. Jej zainteresowania badawcze są bardzo szerokie i obejmują: badania unaczynienia nowotworów oraz rejonów hipoksji w guzie, obrazowanie mikrośrodowiska guza, opracowywanie nowych terapii przeciwnowotworowych opartych na kombinacji terapii tj.: chemioterapia, radioterapia, terapia fotodynamiczna oraz hipertermia. Pani doktor posiada wszelkie

predyspozycje do bycia samodzielnym pracownikiem naukowym i kierowania swoim własnym zespołem badawczym.

#### **Ocena dorobku grantowego oraz współpracy międzynarodowej.**

Pani Doktor obecnie kieruje dwoma projektami grantami finansowanymi ze środków NCN: OPUS23 i OPUS15. Była kierownikiem jednego projektu NCN w ramach konkursu Preludium oraz czterech projektów finansowanych ze środków wewnętrznych UJ. Jest członkiem zespołów badawczych dwóch projektów w trakcie realizacji oraz pięciu projektów zakończonych. Odbyła cztery staże zagraniczne, których łączny czas trwania wyniósł 39 miesięcy.

#### **Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego, popularyzatorskiego.**

Pani dr Martyna Krzykawska-Serda prowadzi aktywną działalność edukacyjną, w ramach której prowadzi wykłady na Uniwersytecie Jagiellońskim pt.; *Biologia nowotworów-aspekty biofizyczne, Fizjologia i patologia hipoksji, Wyzwania współczesnej biofizyki, Między fizyką a biologią- kurs dla biofizyki*. Poza wykładami prowadziła również seminaria i ćwiczenia: *In vivo veritas - Practical Course in Animal Research, In vivo veritas – Praktikum pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi, Zwierzęta w badaniach naukowych - praktikum dla doktorantów, Wyzwania współczesnej biofizyki, Filozofia przyrody - kurs dla 1 roku biochemii II stopnia, Biofizyka, Metodologia pracy naukowej, Obrazowanie wnętrza organizmu – praktikum*. Jest promotorem ośmiu prac magisterskich oraz sześciu prac licencjackich. Aktywnie uczestniczy w programie Erasmus (Ogun Coban). Była recenzentem sześciu prac magisterskich oraz jednej pracy licencjackiej. Recenzowała lub recenzuje manuskrypty prac w następujących czasopismach naukowych: *Acta Biochimica Polonica, Biomedicines, Cancer, International Journal of Environmental Research and Public Health, Journal of Molecular Imaging and Biology, Scientific Reports*.

Była członkiem komitetów organizacyjnych konferencji naukowych: 10-13.10.2022 XIIth EPR Workshop, Kraków oraz 10-12.02.2021 XLVIIth Winter School of Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Kraków. Organizowała oraz brała udział w programach popularyzujących naukę: *Małopolska Noc Naukowców, Festiwal Nauki i Sztuki w Krakowie, Światło w służbie medycyny w ramach programu dla licealistów itp.* Oprócz tego Pani doktor jest laureatką stypendiów, posiada współpracę z sektorem gospodarczym oraz jest członkiem zespołów eksperckich.

#### **Najważniejsze wyróżnienia:**

Pani doktor za swoją działalność naukową otrzymała również wyróżnienia:

1. 2018 rok – grupowa Nagroda Rektora Uniwersytetu Jagiellońskiego za osiągnięcia naukowe.
2. Stypendium Małopolskiego Ośrodka Medycyny Translacyjnej na rok 2014.
3. Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców na lata 2018-2021.

## **Wniosek końcowy.**

Dorobek naukowy Pani dr Martynty Krzykawskiej-Serda oraz osiągnięcie naukowe w obszarze planowania i prowadzenia wieloczynnikowego leczenia przeciwnowotworowego w oparciu o metody obrazowania oraz dokonania w zakresie dydaktyki, organizacji i współpracy naukowej spełniają kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Zwracam się zatem do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani dr Martynty Krzykawskiej-Serda do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Gliwice, dn. 03.04.2024

KIEROWNIK  
Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów  
im. Profesora Mieczysława Chorażego



*dr hab. Tomasz Cichoń*