

Gdańsk, 24 marca 2023

Prof. dr hab. Iwona Inkielewicz-Stępniaik
Kierownik
Katedry i Zakładu Patofizjologii Farmaceutycznej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Dębinki 7
80-211 Gdańsk

TEL: +48 58 349 1516

FAX: +48 58 349 1517

email: iwona.inkielewicz-stepniak@gumed.edu.pl

Ocena

osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego i całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr n. med. Natalii Vydry

1. Uwagi formalne

Formalną podstawę sporządzenia oceny dorobku dr n. med. Natalii Vydry stanowią:

- pismo Rady Doskonałości Naukowej o wyznaczeniu części składu komisji habilitacyjnej, w tym mojej osoby na recenzenta komisji, w drodze przeprowadzonego losowania w dniu 28 listopada 2022 r.
- pismo prof. dr hab. Andrzeja Rutkowskiego, zastępcy Przewodniczącego Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im Marii Skłodowskiej-Curie - Państwowego Instytutu Badawczego z dnia 23 stycznia 2023 r. o powierzeniu mi funkcji recenzenta w przedmiotowym postępowaniu, wszczętym w dniu 27 lipca 2022 r. w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne. Niniejszą recenzję wykonałam na podstawie dokumentacji przekazanej na nośniku USB i w formie papierowej przez jednostkę prowadzącą przedmiotowe postępowanie.

2. Sylwetka Kandydatki, przebieg pracy zawodowej

Dr Natalia Vydra dyplom magistra biologii (z wyróżnieniem) uzyskała w 2000 roku po odbyciu studiów na Wydziale Biologii i Ekologii Grodzieńskiego Uniwersytetu Państwowego im. J. Kupaty (Białoruś). Stopień naukowy doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna (z wyróżnieniem) nadała Kandydatce Rady Naukowej Centrum Onkologii-Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w 2005 roku na podstawie rozprawy doktorskiej pod tytułem „Disruption of spermatogenesis by the spermatocyte-specific expression of a constitutively active heat shock transcription factor 1 (HSF1) in the testes of transgenic mice”. Promotorem pracy jest Pan prof. Zdzisław Krawczyk.

Po skończeniu studiów Kandydatka rozpoczęła pracę, a następnie studia doktoranckie w Instytucie Biochemii Narodowej Akademii Białorusi w Grodnie (2000-2001). Od roku 2000 działalność naukowa, a od roku 2004 również zawodowa dr Natalii Vydry związana jest z Narodowym Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie - Państwowym Instytutem Badawczym, Oddziałem w Gliwicach. Od

roku 2010 zatrudniona jest na stanowisku adiunkta Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów im. Profesora Mieczysława Chorażego. Na pokreślenie zasługuje umiejętność zdobywania funduszy stypendialnych przez Kandydatkę, które umożliwiły Jej pobyt w ośrodku naukowym w Polsce i tym samym rozwój naukowy: stypendium National Cancer Institute - Office of International Affairs (Bethesda, Stany Zjednoczone), stypendium Kasy im. J. Mianowskiego (Fundacja na rzecz Nauki Polskiej).

W latach 2007-2008 dr Natalia Vydra odbyła dwa staże podoktorskie, na Uniwersytecie Turku (styczeń-maj 2007) oraz Imperial College w Londynie (czerwiec 2007 - sierpień 2008) w grupie prof. Ilpo Huhtaniemi. Podczas pobytu na Uniwersytecie w Turku uczestniczyła w pracach mających na celu otrzymanie myszy transgenicznych z ukierunkowanym wyłączeniem ekspresji genu Hsd17b3, nad konstrukcją wektora do wyłączenia genu za pomocą rekombinacji RED/ET, hodowlą mysich zarodkowych komórek macierzystych, oraz uzyskaniem i genotypowaniem klonów komórek ES. Natomiast w trakcie pobytu w Imperial College, uczestniczyła w pracach, które udowodniły, że nie istnieje dawka testosteronu, która utrzymałaby funkcje seksualne przy równoczesnym zahamowaniu wydzielania testosteronu i aktywacji spermatogenezy. Zaproponowano, że terapeutyczny zakres działania antykoncepcyjnego opartego na podawaniu egzogennej testosteronu jest bardzo wąski lub nawet nieistniejący. Podczas hamowania sekrecji gonadotropin i wewnątrzjądrowego testosteronu, egzogennie wprowadzany testosteron może promować spermatogenezę. Badania prowadzone były z wykorzystaniem myszy transgenicznych, wykazujących brak ekspresji receptora luteotropowego (LHR-/-), a wyniki zostały opublikowane w pracy Oduwole i wsp., 2014.

Niezwykle ważnym aspektem pracy naukowej jest umiejętność pozyskiwania funduszy, bez których nie jest dzisiaj możliwe prowadzenie zaawansowanych badań. Habilitantka była kierownikiem dwóch zrealizowanych projektów, uzyskanego w ramach konkursu Narodowego Centrum Nauki oraz Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Aktualnie jest kierownik projektu finansowanego w ramach konkursu OPUS 22 Narodowego Centrum Nauki. Jako wykonawca uczestniczyła w sześciu projektach grantowych.

Dr Vydra zdobyła liczne nagrody i wyróżnienia za swoje prace naukowe. I nagrodę za najlepszą prezentację plakatową, podczas XXII Gliwice Scientific Meetings, Gliwice (2018), wyróżnienie za prezentację plakatową podczas XX Gliwice Scientific Meetings, Gliwice (2016), nagrodę Dyrektora Centrum Onkologii za najlepszą pracę naukową (2015, 2014, 2007, 2005), wyróżnienie w konkursie PTBioch im. Jakuba Karola Parnasa na najlepszą pracę naukową (2007), nagrodę PTO im. Hilarego Koprowskiego za najlepszą pracę naukową (2007), nagrodę Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej dla młodych badaczy (2006), nagrodę Dyrektora Centrum Onkologii za najlepszy doktorat obroniony przed Radą Naukową Centrum Onkologii przez pracownika Centrum Onkologii, Warszawa (2005), wyróżnienie PTBioch im. Włodzimierza Mozołowskiego za prezentację plakatową (2003).

Całościowy dorobek naukowy Habilitantki obejmuje **24 publikacje oryginalne**, **4 prace pogładowe**, współautorstwo w 109 doniesień zjazdowych w tym czynny aktywny udział w **33 konferencjach naukowych** o zasięgu krajowym i międzynarodowym,. Sumaryczny wskaźnik oddziaływania (**impact factor**) dorobku według przedstawionych danych bibliometrycznych na dzień 05.05.2022 wynosi **118,248**, łączna liczba punktów ministerialnych - 1679, **indeks Hirscha wg bazy Web of Science** wynosi **14** a **całkowita liczba cytowań 468**.

Habilitantka w swojej pracy zawodowej wykazała się wyróżniającą aktywnością naukową realizując badania w różnych ośrodkach naukowych, uczestnicząc w wielu projektach naukowych i zdobywając fundusze w ramach konkursów zewnętrznych oraz publikując wyniki w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowymi i prezentując na konferencjach w kraju i za granicą.

3. Ocena osiągnięcia naukowego będącego podstawą postępowania habilitacyjnego

Ocena formalna

Na osiągnięcie naukowe dr Natalii Vydry zatytułowane „Rola czynnika transkrypcyjnego HSF1 w komórkach nowotworowych" składają się **cztery prace oryginalne** opublikowanych w czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: *BMC Cancer*, *Cell Signal.*, *Cancers (Basel)*, *Elife*. Do osiągnięcia włączone są również **trzy prace pogładowe** opublikowane w czasopismach *Postępy Biologii Komórki*, *Curr Cancer Drug Targets*, *Cell Oncol (Dordr)*. Prace stanowią spójne tematycznie opracowania naukowe, zostały opublikowane w okresie 2012-2021. Sumaryczny współczynnik oddziaływania **IF** czasopism, w których ukazały się publikacje zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **30,695**, **liczba punktów MNiSW – 545**. Habilitantka w sześciu pracach jest autorem korespondencyjnym (pierwszym lub ostatnim), w jednej - drugim. Udział dr Natalii Vydry w większości prac był wiodący (była głównym lub jednym z głównych badaczy) i polegał na opracowaniu lub współpracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu eksperymentów, analizie i dyskusji danych doświadczalnych, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów, finansowaniu lub współfinansowaniu badań z autorskiego projektu grantowego, istotnym udziale w tworzeniu i przygotowaniu manuskryptu do druku. Prace wchodzące w skład osiągnięcia są współautorskie, w tym oryginalne mają odpowiednio: pięć, ośmiu, dziesięciu i trzynastu współautorów; pogładowe: dwie - trzech, jedna - czterech autorów. Oświadczenia współautorów publikacji załączone w dokumentacji potwierdzają udział przedstawiony przez Habilitantkę w poszczególnych pracach.

Z przedstawionych powyżej danych wynika, że Habilitantka miała istotny wkład w powstanie publikacji wchodzących w skład przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego. Jednoznacznie stwierdzam, że pod względem formalnym przedstawiony do oceny dorobek dr Natalii Vydry spełnia ustawowe warunki o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Ocena merytoryczna

Przedstawione osiągnięcie naukowe stanowi spójny tematycznie cykl prac, wskazujący, że HSF1 może pełnić ważną rolę w progresji choroby nowotworowej w kierunku tworzenia przerzutów, sprzyjając migracji komórek oraz nasilając oporność komórek nowotworowych na zastosowane terapie.

Każda z prac przeszła już dokładny cykl recenzji w prestiżowych czasopismach naukowych. Tym samym nie omawiam tych publikacji szczegółowo, a jedynie poniżej prezentuję najważniejsze wyniki i wnioski prac stanowiących osiągnięcie naukowe, do których zaliczam:

1) Wykazanie, że kształtowanie oporności wielolekowej nie jest bezpośrednio zależne od białek HSP i wynika ze zwiększonej ekspresji genów ABC oraz wskazanie na inne mechanizmy działania HSF1 w regulacji ekspresji genów ABC.

Należy podkreślić, iż Habilitantka skonstruowała model badawczy mysich (B16F10) i ludzkich (WM793B i 1205Lu) komórek czerniaka z ekspresją konstytutywnie aktywnego mutantu HSF1 (z delecją domeny regulatorowej, aa 221-315: 6RD) oraz komórki ze zwiększoną ekspresją HSF1 (hHSF1) oraz z ekspresją mutantu blokującego wiązanie prawidłowego HSF1 do DNA, tzw. „dominant-negativ” (HSF1-DN).

2) wykazanie, że aktywacja HSF1 sprzyja ruchliwości komórek nowotworowych i ich zdolności do migracji, między innymi poprzez regulację ekspresji genów związanych z cytoszkieletem.

W celu uzyskania aktywacji HSF1 bez konieczności stosowania szoku termicznego Pani dr Natalia Vydra skonstruowała komórki mysiego i ludzkiego czerniaka z ekspresją konstytutywnie aktywnego czynnika HSF1 (aHSF1). Habilitantka poszukując mechanizmu zależnych od HSF1 zmian w ruchliwości komórek wykazała, że ekspresja aktywnego HSF1 powodowała obniżenie ekspresji kilku genów kodujących białka związane z cytoszkieletem, m.in. winkuliny. W modelu badawczym ustaliła, że ekspresja aktywnego HSF1 korelowała ze słabszą adhezją komórek do fibronektyny oraz wpływała na cytoszkielet aktynowy, co może być związane z obniżoną ekspresją winkuliny.

3) wykazanie, że estrogen poprzez ER α oraz ścieżkę MAPK aktywuje HSF1, który następnie wraz z ER α uczestniczy w reorganizacji chromatyny i tym samym stymuluje transkrypcję estrogeno-zależnych genów.

Moją szczególną uwagę zwróciły badania Habilitantki, w których stosując technikę wychwytywania konformacji chromosomów (3C) potwierdzony został udział HSF1 w zakotwiczeniu ER α i reorganizacji pętli chromatyny po stymulacji estrogenem. Tym samym po raz pierwszy dowiedziono, że HSF1 może być czynnikiem umożliwiającym zakotwiczenie ER α w chromatynie, oraz uczestniczy w tworzeniu pętli chromatyny łączących odległe geny w celu skoordynowanej regulacji ich transkrypcji.

4) wykazanie, że geny aktywowane przez ER α i HSF1 odgrywają ważną rolę w regulacji wzrostu i rozprzestrzeniania się komórek nowotworowych w badanych modelach.

5) Za bardzo wartościowe nie tylko z punktu poznawczego, ale również praktycznego uważam badania analiz korelacji przeżycia chorych na raka piersi w zależności od poziomu transkryptu ER α i HSF1 z

wykorzystaniem danych RNA-Seq zdeponowanych w bazie danych TCGA. Wykazano korelację między rosnącym poziomem HSF1 a chorobą przerzutową w hormonalnych rakach piersi i tym samym potwierdzono wyniki eksperymentów *in vitro*, wskazujących, że HSF1 odgrywa ważną rolę w procesie przerzutowania komórek nowotworowych.

Szkoda, że Habilitantka nie przedstawiła znaczenia zagadnień prezentowanych w pracach poglądowych i tym samym uzasadnienia merytorycznego dla ich włączenia w osiągnięcie naukowe. Jednak uwzględniając wiodący wkład dr Natalii Vydry w powstanie prac poglądowych oraz spójność tematyczną z pracami oryginalnymi: podsumowanie funkcji HSF1 mających potencjalne znaczenie dla procesu nowotworzenia, z punktu formalnego, włączenie prac poglądowych w osiągnięcie nie budzi moich zastrzeżeń.

Przedstawione osiągnięcie stanowi niewątpliwie spójny tematycznie, logicznie powiązany i merytorycznie uzasadniony cykl prac doświadczalnych o dużej wartości poznawczej z potencjałem praktycznego zastosowania. Habilitantka zrealizowała cele badawcze, a Jej prace naukowe stanowią istotny i oryginalny wkład w zrozumienie i wyjaśnienie mechanizmów związanych z rolą aktywacja HSF1 oraz zależnej od niego odpowiedzi na stres w powstaniu chemooporności oraz wznowy choroby nowotworowej po zakończonej terapii, jak również wpływem HSF1 na wzrost komórek nowotworowych oraz utrzymanie fenotypu komórek raka piersi.

Dr Natalia Vydra wykazała się samodzielnością badawczo-naukową polegającą na projektowaniu i realizacji badań cieszących się szerokim uznaniem i zainteresowaniem, czego wyrazem jest ranga czasopism, w których recenzenci docenili nowatorstwo prac wchodzących w skład osiągnięcia.

Podsumowując, osiągnięcie naukowe Habilitantki stanowi interesującą lekturę, którą z przyjemnością oceniałam.

4. Ocena osiągnięć naukowo-badawczych, które nie wchodzą w skład cyklu badań będącego podstawą pracy habilitacyjnej

Dorobek naukowy dr Natalii Vydry świadczy o dużym zaangażowaniu w eksperymentalne prace badawcze, umiejętności nawiązywania współpracy, zdobywaniu funduszy na badania i umiejętności pracy zespołowej.

Osiągnięcia naukowo-badawcze Habilitantki, które nie wchodzą w skład cyklu badań będącego podstawą pracy habilitacyjnej, obejmują **19 prac doświadczalnych i 1 pracę poglądową**, które ukazały się w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym o sumarycznym wskaźniku oddziaływania **IF=87,553**. Do momentu nadania stopnia doktora Kandydatka posiadała całkowity dorobek, obejmujący 3 artykuły o sumarycznej wartości IF = 7,450. Nie ulega wątpliwości, iż dorobek po doktoracie został istotnie powiększony.

Habilitantka w początkowym okresie swojej pracy naukowej zajmowała się charakterystyką struktury promotora indukowalnego przez stres genu Hspa1b i swoistego dla jąder genu Hspa2 szczura w zespole badawczym kierowanym przez prof. Zdzisława Krawczyka. Uczestniczyła w badaniach mających na celu zrozumienie mechanizmu aktywacji promotora genu Hspa1b szczura pod wpływem niektórych nośników DNA opartych na liposomach. Wynikiem prowadzonych eksperymentów było wykazanie, że niektóre liposomy kationowe mogą nie nadawać się do badań funkcjonalnych promotorów genów HSP, a lipofekcja może powodować niezamierzone zmiany w globalnej ekspresji genów w transfekowanych komórkach. Dr Natalia Vydra uczestniczyła również w pracach dotyczących struktury promotora genu Hspa2, który koduje białko swoiste dla spermatocytów. W ramach prowadzonych badań dowiedziono m.in. funkcjonalne znaczenie alternatywnego miejsca rozpoczęcia transkrypcji w uruchomieniu ekspresji Hspa2 w komórkach spermatogenicznych podczas rozwoju postnatalnego.

Dr Natalia Vydra brała także udział w badaniach prowadzonych pod kierownictwem dr hab. Doroty Scieglińskiej, które miały na celu poznanie znaczenia białek rodziny HSPA (HSPA1 i HSPA2) w utrzymaniu fenotypu nowotworowego komórek niedrobnokomórkowego raka płuc. Za bardzo ciekawe i ważne z punktu naukowego poznawczego i aplikacyjnego uważam wykazanie, że jednoczesne hamowanie kilku paralogów HSPA (np. poprzez zahamowanie aktywacji HSFl) uwrażliwia komórki nowotworowe na działanie leków przeciwnowotworowych (np. manumicyny).

W pracy doktorskiej Habilitantka, stosując model myszy transgeniczných ze swoistą ekspresją transkrypcyjnie aktywnego HSFl w spermatocytach udowodniła, że aktywacja HSFl w spermatocytach prowadzi do zahamowania spermatogenezy uruchamiając śmierć komórek spermatogenicznych na drodze apoptozy, która naśladuje śmierć wywołaną szokiem cieplnym. Kontynuowanie podjętej tematyki badawczej pod kierownictwem dr hab. Wiesławy Widłak pozwoliły wykazać, że HSFl może odgrywać nie tylko funkcje cytoprotekcyjną (aktywując ekspresję genów kodujących białka szoku cieplnego), która dominuje w komórkach opornych na szok termiczny, ale może również indukować apoptozę (poprzez PMAIP1), co przy równoczesnym braku aktywacji HSP wiąże się ze zwiększoną wrażliwością na stres.

Podsumowując, uważam że dorobek naukowy dr Natalii Vydry jest bogaty i wartościowy, świadczący o umiejętnym planowaniu i przeprowadzaniu eksperymentów. Nie ma wątpliwości, że Habilitantka posiada wiedzę i doświadczenie pozwalające na pełną samodzielność naukową.

5. Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego

Mimo, iż Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach nie prowadzi typowej działalności dydaktycznej, dr Natalia Vydra angażowała się w opiekę nad studentami w ramach wolontariatów, praktyk i stażów studenckich. Była promotorem pomocniczym pracy doktorskiej, wyróżnionej przez Radę Naukową Centrum Onkologii - Instytutu im.

Marii Skłodowskiej-Curie (2015) oraz dyplomowej pracy magisterskiej (Politechnika Śląska, Gliwice, 2011). Habilitantka prowadziła wykłady i laboratoria z przedmiotów „Biochemistry and the basics of organic chemistry” oraz „High-throughput techniques in molecular biology” dla doktorantów szkoły doktorskiej Polsko-Japońskiej Akademii Technik Komputerowych w ramach projektu INTERKADRA (Nr UDA -POKL-04.01.01-00-014/10-00 w latach 2012-2014). Dr Natalia Wydra również współpracowała z inwestorem WASKO Sp. z o.o. w ramach projektu TANGO2, w którym jako wykonawca uczestniczył w opracowaniu testu wykrywającego HPV we krwi pacjentów chorych na raka.

Habilitantka jest członkiem Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, a w latach 2017-21 była członkiem Cell Stress Society International.

O uznanej pozycji międzynarodowej w środowisku naukowym świadczy również fakt powierzania Kandydatce recenzji prac przesyłanych do redakcji specjalistycznych, uznanych czasopism naukowych, takich jak: *Cell Biology International*, *Reproduction*, *Molecular Biology of the Cell*, *Future Science OA*, *Pathobiology*, *Cancers*, *Cells*, *Theriogenology*, *Marine Drugs*, *Acta Biochimica Polonica*.

Podsumowując, moja ocena tego aspektu aktywności Habilitantki jest pozytywna.

6. Podsumowanie i wniosek końcowy

Podsumowując, kierując się wysoką oceną osiągnięcia naukowego oraz osiągnięciami dydaktycznymi i organizacyjnymi dr Natalii Vydry, uważam, że spełnia Ona kryteria konieczne do uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Nie ulega wątpliwości, że dr Natalia Wydra posiada wysokie kwalifikacje do prowadzenia samodzielnej pracy naukowo-badawczej w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne. **W pełni popieram wniosek Habilitantki i zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu z wnioskiem o dopuszczenie dr Natalii Vydry do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.**



Prof. dr hab. Iwona Inkielewicz-Stępnia