



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Biologii
Instytut Biologii Rozwoju i Nauk Biomedycznych
Zakład Cytologii
prof. dr hab. Maria Anna Ciemerych-Litwinienko



Warszawa, 20 lutego 2022

Ocena osiągnięcia naukowego
„Mechanizmy molekularne zaniku mięśni w sarkopenii i kacheksji nowotworowej oraz potencjał aplikacyjny indukowanych komórek macierzystych w badaniach przedklinicznych” oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego
Pani doktor Joanny Brzeszczyńskiej

Podstawowe dane o kandydatce i przebieg pracy naukowo-zawodowej

Pani doktor Joanna Brzeszczyńska uzyskała stopień naukowy doktora nauk biologicznych w 1999 roku na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego. Praca doktorska z obszaru biofizyki dotyczyła badań nad strukturą erytrocytów poddanych stresowi oksydacyjnemu. Jej promotorem był prof. dr hab. Krzysztof Gwoździński. Przed rozpoczęciem studiów doktoranckich mgr Brzeszczyńska była zatrudniona na stanowisku pracownika naukowo-technicznego na UŁ, natomiast po uzyskaniu stopnia doktora najpierw pracowała w dziale badań klinicznych firmy Merck, Sharp and Dohme a następnie rozpoczęła pracę na Uniwersytecie w Edynburgu (2006-2018, różne stanowiska aż do Senior Research Fellow) oraz Uniwersytecie of West Scotland w Glasgow (od 2018 roku). Od 2009 roku zatrudniona jest także na stanowisku adiunkta na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska UŁ.

Z przedstawionej przez habilitantkę dokumentacji nie wynika że ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Informacje o ocenianych osiągnięciach naukowych

Osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego zostało zatytułowane „Mechanizmy molekularne zaniku mięśni w sarkopenii i kacheksji nowotworowej oraz potencjał aplikacyjny indukowanych komórek macierzystych w badaniach przedklinicznych.” Jest to cykl sześciu powiązanych tematycznie publikacji powstałych w latach 2015-2020.

Autoreferat zawiera wyczerpującą informację dotyczącą danych naukowych osiągnięć. W momencie złożenia wniosku do Rady Doskonałości sumaryczny Impact Factor czasopism, w których ukazały się prace włączone do osiągnięcia, zgodnie z rokiem publikowania wynosił 39,051, liczba punktów

ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
tel.: 22 55 42 216
e-mail: ciemerych@biol.uw.edu.pl

MNiSW/MEiN 750, liczba cytowań wg bazy Web of Science 96 (bez autocytowań). Publikacje te ukazały się w dobrych i bardzo dobrych czasopismach o IF (2020) od 2,784 do 12,910, były wielokrotnie cytowane. W sierpniu 2021 wszystkie prace Habilitantki cytowane były 278 razy a iH wynosił 10 (wg. Web of Science). Przed uzyskaniem stopnia doktora opublikowała Ona 4, po uzyskaniu stopnia doktora 21 prac. Ponadto, do dorobku Habilitantki wchodzi 12 prac opublikowanych jako materiały z konferencji międzynarodowych.

Wszystkie 25 publikacji Habilitantki zostało wydrukowanych w czasopismach naukowych funkcjonujących w obiegu międzynarodowym, takich jak *Free Radical Research*, *International Journal of Molecular Medicine*, *Stem Cell Reports*, *Experimental Cell Research*, *Aging*, *Journal of Cachexia*, *Sarcopenia and Muscle*, *Cells*, i innych. W 12 z tych prac Habilitantka jest pierwszą autorką, w jednej – ostatnią. Wykaz osiągnięć naukowych zawiera opis udziału Habilitantki w powstanie każdej z publikacji. Wraz z rozwojem kariery naukowej udział i rola w ich tworzeniu wzrastały, co świadczy o rozwoju i uzyskiwaniu samodzielności przez dr Brzeszczyńską. Jednocześnie prezentowała Ona wyniki swoich badań na licznych konferencjach naukowych (plakaty, referaty, wykłady plenarne, publikacje w materiałach pokonferencyjnych).

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o przyznanie stopnia doktora habilitowanego to cykl sześciu wieloautorskich prac. W pracach H1-H4 dr Brzeszczyńska jest wymieniona jako pierwszy autor, natomiast w pozostałych dwóch publikacjach (H5, H6) jest ona drugim lub trzecim autorem. Funkcję autora korespondencyjnego pełni w dwóch publikacjach (H3, H4). W przypadku każdej z tych publikacji kandydatka opisała swój wkład, ponadto dołączyła oświadczenia współautorów. W przypadku dr Fearona przedstawienie oświadczenie było niemożliwe – zmarł w 2016 roku. W przypadku prof. Rossa ograniczeniem okazało się jego przejście na emeryturę w 2018. Analiza oświadczeń współautorów i habilitantki pozwala wyciągnąć wniosek, że miała Ona dominujący wkład w powstanie prac H1-H4 (65-70%), nieco mniejszy ale również istotny w tworzeniu prac H5 i H6. Wkład był kluczowy na każdym etapie prac, zarówno podczas tworzenia koncepcji badań, uzyskiwaniu wyników, ich selekcji i opracowania oraz na końcowym etapie, gdy manuskrypt jest przygotowywany do druku, wysyłany do czasopisma itp. Precyzyjne podsumowanie zaangażowania dr Brzeszczyńskiej zawiera oświadczenie dodatkowe #1. Wszystkie podsumowania naukometryczne przygotowane zostały zgodnie z wymaganiami ustawy.

Ocena wskazanego przez kandydatkę osiągnięcia naukowego, czy stanowi ono znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny naukowej

Prace zawarte w osiągnięciu naukowym będącym podstawą wniosku dotyczą poznania molekularnych mechanizmów atrofii mięśniowej wywołanej sarkopenią i kacheksją nowotworową, a także standaryzacji analiz ekspresji genów i opracowania metod hodowli różnicujących komórek macierzystych.

Autoreferat zawiera wstęp uzasadniający podjęcie tego rodzaju badań oraz problemy związane ze zmianami w strukturze i funkcjonowaniu mięśni szkieletowych związanymi ze starzeniem się czy chorobą. Odnosi się także to trudnej problematyki opracowania odpowiednich terapii przeciwdziałających atrofii mięśni oraz do konieczności opracowania nowych modeli badawczych umożliwiających testowanie farmaceutyków *in vitro*, np. z wykorzystaniem komórek uzyskanych z iPSC. Wady i zalety różnego rodzaju podejść terapeutycznych zostały bardzo dobrze przedstawione.

W trzech z sześciu prac będących podstawą osiągnięcia Autorka skupiła się na identyfikacji czynników leżących u podstaw rozwoju sarkopenii i kacheksji oraz starzenia się mięśni szkieletowych (H1, H2, H4). Badania opisane w H1 i H2 dotyczyły analizy materiału pobranego od chorych na nowotwory górnego odcinka przewodu pokarmowego (cierpiący na utratę masy mięśniowej, kacheksję, i tych którzy mieli stałą masę mięśniową) oraz zdrowych dawców i pacjentów w podeszłym wieku cierpiących na sarkopenię. Badania prowadzono

z wykorzystaniem komórek satelitowych i mioblastów uzyskanych z biopsji mięśni szkieletowych. W pracach tych wykorzystano wyniki równoległe prowadzonych badań (H3, H5, H6) dotyczących odpowiedniego dobru

genów referencyjnych do określenia poziomu ekspresji czynników miogenicznych, prozapalnych, związanych z apoptozą i starzeniem, w badanym materiale. W ten sposób uzasadniono włączenie do zbioru prac, które odbiegają tematyką od wiodącego „mięśniowego” wątku. Jako jeden z transkryptów, którego cDNA zostało wybrane do normalizacji wyników, wybrano ten kodujący cyklinę D1. Jeżeli jest to faktycznie cyklina D1 to powinna być określona, jako *CCND1*. Jeżeli badana była ekspresja *CYC1* to jest to mitochondrialny cytochrom C1. W przeglądowej pracy H4 inna cyklina – cyklina D2 określana jest poprawnie jak *CCND2*. Ekspresja białek z rodziny cyklin zmienia się podczas cyklu komórkowego. Stałość poziomu tego transkryptu świadczyłaby o „stabilności” terminalnie zróżnicowanej tkanki jaką jest mięsień szkieletowy. Ale czy w przypadku uszkodzenia mięśnia i jego regeneracji, czy różnicowania mioblastów *in vitro*, cDNA kodujące cyklinę D1 byłoby rzeczywiście wyborem nietrafionym. Ekspresja cyklin wzrasta po wznowieniu cyklu komórkowego. Więc może jednak był to cytochrom C1...? Ufam, że Habilitantka jest świadoma co analizowała.

Wyniki opisane w pracach H1 i H2 są niezwykle interesujące – wskazują bowiem na różnice między mięśniami różnych grup pacjentów, w tym także tych w podeszłym wieku, na poziomie ekspresji czynników regulujących miogenezę, ale także genów kodujących białka zaangażowane w reakcję na stres oksydacyjny, czy regulujących autofagię. Wskazują na markery, które mogą być wykorzystane w prognozowaniu rozwoju kacheksji u chorych na nowotwory. Analizy prowadzone w z wykorzystaniem hodowli komórkowych pozwoliły uwidocznić różnice, które niekoniecznie muszą odróżniać nieuszkodzone mięśnie badanych grup pacjentów. W przypadku uszkodzenia mięśni cierpiących z powodu kacheksji, sarkopenii czy osób starych zjawiska zidentyfikowane *in vitro* (w poziomie ekspresji *PAX7*, związane z powstawaniem fibrozy, ze stanem zapalnym) będą prowadzić do osłabionej regeneracji. Wyniki opisane w tych publikacjach uważam za nowatorskie i ważne z punktu widzenia postępu badań nad przeciwdziałaniem atrofii czy zaburzeń regeneracji mięśni szkieletowych. Przeglądowa praca H4 świetnie podsumowuje wiedzę na temat kacheksji, sarkopenii, ale także innych zaburzeń, podkreślając rolę miRNA w tych procesach.

Prace H5 i H6 to oddzielny wątek. Wybór genów referencyjnych może uzasadniać ich obecność w zestawieniu, nie dotyczą one jednak problematyki mięśni szkieletowych. Uzasadnieniem ich obecności w „osiągnięciu” jest możliwość wykorzystania komórek uzyskanych z komórek macierzystych w badaniach nad czynnikami/farmaceutykami mogącymi poprawić funkcjonowanie, różnych tkanek, w tym także mięśni dotkniętych sarkopenią, kacheksją czy też starzejących się. Prace dotyczą uzyskiwania komórek iPSC, oceny wydajności reprogramowania. W badaniach opisanych w H5 udało się zoptymalizować warunki hodowli. Wiele przedstawionych w niej aspektów ma ograniczone nowatorstwo (np. hodowla z pominięciem MEF), ale całościowo wnosi ona nowe dane i podsumowania z całą pewnością istotne dla dalszych badań z wykorzystaniem komórek macierzystych takich jak iPSC czy ESC. W H5 zabrakło jednak solidnej weryfikacji pluripotencji uzyskanych komórek, np. uzyskania i analizy potworniaków. Praca H6, podobnie jak H5 odbiega od tematu głównego osiągnięcia. Dotyczy uzyskiwania z iPSC organoidów zawierających hepatocyty. W tym przypadku opisana metoda jest nowatorska i z pewnością pozwoli na testowanie różnego rodzaju farmaceutyków.

Podsumowując, wyniki dotyczące badań atrofii mięśniowej są nowatorskie, ważne i przyczynią się do rozwoju terapii tych schorzeń/przypadłości. Identyfikacja odpowiednich genów referencyjnych przydatnych w ocenie ekspresji badanych markerów była ważnym etapem w powstawaniu tych prac. W przyszłości należałoby jednak zachować większą skrupulatność w cytowaniu nazw badanych czynników. Wyniki badań dotyczących iPSC stanowią luźno powiązane uzupełnienie do części pierwszej Autoreferatu. Opracowane metody mają jednak duży potencjał aplikacyjny i zapewne znajdą zastosowanie w dalszych badaniach. Ergo, mimo pewnego braku spójności tematyki prac prezentowanych w Osiągnięciu oceniam je pozytywnie i uznaję, że opisane wyniki znacząco poszerzają dotychczasowy stan wiedzy.

Informacja o spełnieniu przez kandydata kryterium dotyczącego wykazania się istotną aktywnością naukową

Aktywność naukowa dr Joanny Brzeszczyńskiej, oprócz publikacji prac naukowych oraz prezentowania wyników na konferencjach naukowych, obejmuje:

- **mobilność naukową.** W 2003 roku odbyła ona 6 miesięczny staż w Arizona State University w USA, od 2006 pracuje w Szkocji, najpierw na Uniwersytetach w Edynburgu a następnie w Glasgow, jednocześnie jest zatrudniona i aktywna na UŁ. Pracowała także w koncernie farmaceutycznym Merck, Sharp and Dohme;
- **współpracę naukową na poziomie krajowym i międzynarodowym.** Do jednostek, z którymi prowadzona jest współpraca należą: Uniwersytet Medyczny w Łodzi, liczne zespoły na Uniwersytetach w Edynburgu, Birmingham, Belfaście, Maastricht, Berlinie, Harvard Medical School, Harvard Medical Stem Cell Institute, Novartis Institute for Biomedical Research w Szwajcarii, ośrodki medyczne w Glasgow, Peking University People's Hospital, czy Boehringer Ingelheim Pharma GmbH. Szczegóły zawarte są w Autoreferacie;
- **udział w realizacji projektów naukowych.** Habilitantka była kierownikiem projektu finansowanego z British-Polish Young Scientists Programme, British Council (2006-2007) i projektu na Uniwersytecie w Edynburgu finansowanego przez Leverhulme Trust (2010-2012). Ponadto, była Ona wykonawcą w 8 projektach realizowanych zarówno w Polsce jak w Wielkiej Brytanii, koordynatorką projektu edukacyjno-naukowego BREATH w Wielkiej Brytanii. Opis projektów nie zawiera wysokości ich finansowania, trudno więc ocenić ich rangę. Brakuje danych na temat aktywności w aplikowaniu i zdobywaniu niezależnych projektów badawczych z takich organizacji jak NCN czy MRC (Wielka Brytania);
- **wyróżnienia przyznane za aktywność naukową.** Habilitantka była regularnie wyróżniana nagrodami i stypendiami umożliwiającymi rozwijanie współpracy międzynarodowej (British Council, Edinburgh and Lothians Health Foundation, Leverhulme Trust, Dr Hadwen Trust, StemBANCC Collaborative Project).

Wyżej wymienione aktywności Habilitantki świadczą o spełnieniu kryterium dotyczącego wykazania się istotną aktywnością naukową.

Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę

Dr Joanna Brzeszczyńska prowadziła działalność dydaktyczną zarówno na Uniwersytecie Łódzkim jak w zagranicznych jednostkach, w których była i jest zatrudniona. Na Uniwersytecie Łódzkim prowadziła zajęcia w latach 1995-2000, a następnie od 2009 roku do dziś. Od 2006 uczy na Heriot-Watt University w Edynburgu. W latach 2014-2017 prowadziła specjalistyczne kursy z technik hodowli i manipulacji komórkami macierzystymi. Od 2018 prowadzi seminaria dla doktorantów na West Scotland University, jest aktywna w edukacyjnym projekcie BREATH. Opiekowała się również doktorantami realizującymi swoje badania na Heriot-Watt University w Edynburgu. W latach 2016-2019 pełniła funkcję promotora pomocniczego pracy doktorskiej realizowanej na Uniwersytecie w Edynburgu. Obecnie koordynuje 5 prac doktorskich w ramach projektu BREATH. Na tym tle blado wypada popularyzacja nauki. W Autoreferacie wymienione są jedynie incydentalne aktywności, takie jak prelekcje dla uczniów szkół średnich czy podstawowych. Od naukowca tej klasy oczekiwałabym większego zaangażowania w działalność popularyzacyjną. Tym bardziej, że Edynburg jest siedzibą sieci popularyzującej wiedzę o komórkach macierzystych i terapiach genowych (EuroStemCell, obecnie EuroGCT), a w Polsce co roku odbywają się Festiwale Nauki i Noce Biologów.

Do działalności organizacyjnej można zaliczyć organizowanie konferencji naukowych, koordynowanie projektu BREATH, członkostwo w zespole redakcyjnym *Bone & Joint Research*.

Podsumowując, działalność dydaktyczną oceniam wysoko, organizacyjną i popularyzatorską również pozytywnie. Widzę jednak duże możliwości lepszego wykorzystania wiedzy dr Brzeszczyńskiej w popularyzowaniu wiedzy o komórkach macierzystych.

Podsumowanie recenzji – wniosek końcowy

Pani dr Joanna Brzeszczyńska przedstawiła wniosek habilitacyjny, którego podstawą jest osiągnięcie naukowe dotyczące molekularnych podstaw sarkopenii i kacheksji nowotworowej a także biologii komórki macierzystej, opracowania metod uzyskiwania i hodowli komórek iPSC. Uzyskane wyniki mogą mieć znaczący wpływ na rozwój medycyny regeneracyjnej. Opublikowane rezultaty poszerzają stan wiedzy i mogą mieć zastosowanie praktyczne. Wkład własny Habilitantki w część eksperymentalną i na etapie powstawania publikacji był dominujący. Ponadto, pani doktor Brzeszczyńska jest aktywna naukowo, dydaktycznie, a także organizacyjnie. Jej dorobek jest bardzo dobry i spełniający główne kryteria określone Ustawą z dn. 20 lipca 2018r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. 30 sierpnia 2018, Poz. 1668), dlatego przedkładam Komisji Habilitacyjnej wniosek o dopuszczenie Pani doktor Joanny Brzeszczyńskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.