



**KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII
I BIOLOGII MOLEKULARNEJ
UNIwersytet Medyczny w Lublinie**

20-093 Lublin, ul. dr W. Chodźki 1
tel. fax 48 (81) 742-37-93

Lublin, 20.12.2016

Recenzja

Dotycząca postępowania habilitacyjnego Pani dr n. med. Moniki Szeliga w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna na podstawie osiągnięcia naukowego pt.

” Izoformy glutaminaz w komórkach glioblastoma i guzach neuroendokrynych”

Informacje o Habilitantce

Dr n. med. Monika Szeliga jest absolwentką Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego (specjalność biologia molekularna), który ukończyła w 2001 roku, broniąc pracę magisterską pt. ‘Strukturalna i funkcjonalna analiza 5'UTR genu arginazy w *Aspergillus nidulans*’. Po studiach została zatrudniona na stanowisku młodszego asystenta w Pracowni Onkologii Molekularnej Zakładu Patomorfologii Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie, gdzie pracowała do 2008 roku. Jednocześnie, w latach 2004-2008 była doktorantką Zakładu Neurotoksykologii, Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie. Od 2008 roku pracowała w tymże Zakładzie jako asystent, a od 2010 roku jako adiunkt.

W 2008 roku uzyskała tytuł doktora nauk medycznych (specjalność biologia medyczna) na podstawie rozprawy doktorskiej, której tematem były : "Glutaminazy w glejopochodnych komórkach nowotworowych"

Doświadczenia zawodowe i naukowe pogłębiła podczas staży i szkoleń za granicą w ośrodkach naukowych - Uniwersytet Groningen (jeszcze w ramach studiów –

program Erasmus) oraz krótkiego stażu w Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Maladze – w trakcie realizacji pracy doktorskiej.

Zwraca uwagę brak typowego stażu podoktorskiego w innym ośrodku niż macierzysty ośrodek Habilitantki.

Pani dr n. med. Monika Szeliga jest obecnie kierownikiem grantu typu Sonata (2014-2017), była kierownikiem innego projektu badawczego MNiSW (2010-2013), oraz głównym wykonawcą lub wykonawcą 4 innych grantów, co świadczy o umiejętności pozyskiwania funduszy zewnętrznych na proponowane badania i świadczy o uzyskanej samodzielności naukowej.

Jest również pierwszym współautorem zgłoszenia patentowego, potrafi więc przekładać osiągnięte wyniki naukowe na potencjalne aplikacje praktyczne.

Potwierdzeniem uznania jakości prowadzonej przez Habilitantkę badań jest także przyznanie jej kilku nagród lokalnych – Dyrektora IMDiK za poszczególne publikacje naukowe.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Działalność dydaktyczna Habilitantki jest skromna, co związane jest z charakterem zatrudnienia w instytucie naukowym PAN, który nie prowadzi zajęć dydaktycznych charakterystycznych dla uniwersytetów. Zaliczyć tu można jedynie nadzór nad kilkoma pracami magisterskimi w charakterze opiekuna naukowego oraz promotora w jednej z nich, oraz w charakterze opiekuna praktyk studenckich. Jak rozumiem z przedstawionych mi materiałów, Habilitantka wygłosiła również jeden wykład dla doktorantów w 2012 roku w ramach współorganizowanego przez nią kursu. Brała udział też w organizacji konferencji międzynarodowej, czego wyrazem było członkostwo w Komitecie organizacyjnym tego wydarzenia.

Pani dr n. med. Monika Szeliga jest recenzentem manuskryptów w szeregu czasopismach międzynarodowych o IF od 1 do 6, co świadczy o tym, że jest rozpoznawana w międzynarodowym środowisku naukowym. Recenzowała również wnioski stypendialne na rzecz FNP. Współpracuje z jednym ośrodkiem zagranicznym – Uniwersytetem w Maladze, Hiszpania.

Zwraca jednak uwagę brak przynależności Habilitantki do jakiegokolwiek towarzystwa naukowego w kraju czy za granicą, co jest dość zaskakujące.

Ocena dorobku naukowego

Z analizy dorobku naukowego dr Moniki Szeliga wynika, że jest Ona autorem lub współautorem 13 publikacji oryginalnych pełnotekstowych, 3 publikacji poglądowych w czasopiśmie z IF, 2 rozdziałów w podręcznikach i 11 streszczeń. Łączny Impact Factor publikacji 52,575. Łączna punktacja MNIŚW wynosi 440. Liczba cytowań według bazy Web of Science wynosi 220 (bez autocytowań), indeks Hirscha 9. Dr Monika Szeliga brała czynny udział w międzynarodowych konferencjach naukowych prezentując doniesienia ustne (Brazylia, Korea) oraz plakatowe (USA, Izrael, Hiszpania, Czechy), jak również w konferencjach i kursach krajowych.

Główne zainteresowania badawcze Habilitantki dotyczą neurobiologii ze szczególnym uwzględnieniem roli glutaminaz w metabolizmie komórek nowotworów wywodzących się z OUN – wpływu tych enzymów na określenie fenotypu komórek glejaków (Neurochem Int), zmiany ekspresji genów i związanej z tym migracji i proliferacji glioblastoma (Glia), roli stresu oksydacyjnego w tym procesie (J Mol Med) stopnia ekspresji mRNA kodujących poszczególne izoformy glutaminaz w guzach OUN otrzymanych pooperacyjnie od pacjentów (Neurochem Res, Neuroscience Lett), czy też ekspresji mRNA kodujących białka transportujące metale w chorobie Huntingtona (Neurochem Res) oraz wpływu substancji syntetycznych na wybrane szlaki sygnałowe w komórkach nowotworowych.

Druga grupa opublikowanych prac dotyczy zagadnień związanych z autolizą bakterii *Lactococcus lactis*.

Ocena osiągnięcia naukowego

Prezentowany cykl prac będący osiągnięciem naukowym jest spójny tematycznie, koncentruje się wokół potencjalnej roli glutaminaz w oddziaływaniu na zmiany epigenetyczne (hypermetylacja DNA) oraz ekspresję genów, m. in. p53 i MGMT, jak również wpływu poszczególnych izoform glutaminaz na intensywność proliferacji komórek glejaków i guzów neuroendokrynych.

Temat ten dotyczy ważnego wątku badań poszukującego wpływu czynników endogennych – w tym przypadku enzymów dezaminujących glutaminę - na stopień agresywności proliferacyjnej glejaków i guzów neuroendokrynych. Mimo ciągłego postępu i wprowadzenia nowych metod terapeutycznych leczenie tego typu

nowotworów jest wciąż trudnym wyzwaniem dla współczesnej medycyny i niestety, z reguły kończy się niepowodzeniem i zgonem pacjenta. Dlatego podjęty temat badawczy jest jak najbardziej celowy i oryginalny. Jest on w pewnym sensie kontynuacją badań zawartych w pracy doktorskiej, co świadczy o konsekwencji badawczej Habilitantki.

Celem badań, których wyniki przedstawione zostały w pierwszej publikacji (Mol Carcinog. 2015 Aug 10. doi: 10.1 002/mc.22372) było zdefiniowanie przyczyn braku ekspresji GLS2 (izoforma glutaminazy typu wątrobowego) w GBM, co może mieć związek z nasiloną proliferacją komórek glioblastoma. Po sprawdzeniu braku ekspresji GLS2 i statusu p53 (zmutowany lub dziki) w komórkach dwóch komercyjnie dostępnych linii ludzkiego glioblastoma - U-87 MG i T98G Autorka przystąpiła do testowania hipotezy badawczej zakładającej, że brak ekspresji GLS2 w GBM jest konsekwencją metylacji tego genu. W tym celu dokonała demetylacji DNA komórek linii T98G i U-87 MG 5-aza-2'-deokycydydynam (5-aza), co doprowadziło do uzyskania ekspresji GLS2, wskazując, że metylacja wysp CpG w obrębie promotora genu może być procesem odpowiedzialnym za brak jego ekspresji w tych komórkach. Analiza sekwencji GLS2 pod kątem lokalizacji wysp CpG wykazała obecność dwóch wysp CpG - jednej w obszarze promotora (CpG I), drugiej w obszarze pierwszego intronu (CpG2), oraz region o bardzo wysokiej zawartości Gc w obszarze promotora, nie spełniający wszystkich kryteriów stawianych przez definicję wyspy CpG, oznaczony jako CpGr. Autorka dokonała też analizy zależności pomiędzy poziomem ekspresji GLS2, poziomem metylacji CpGI CpG2, CpGr i statusem TP53 w skromnym materiale klinicznym 7 guzów GBM i 2 próbkach z materiału biologicznego ludzkiego mózgu. Obserwacje poczynione na liniach komórkowych znalazły odzwierciedlenie w materiale klinicznym, co podkreśla znaczenie odkrycia Habilitantki.

Druga z publikacji stanowiąca składnik doniesienia naukowego – artykuł opublikowany w J Neurochem. 2012 Nov;123(3):428-436 (doi: 10.1111/j.1471-4159.2012.07917.x.) jest kontynuacją badania potencjalnej roli glutaminaz w metabolizmie komórek nowotworowych wywodzących się z OUN, w szczególności ich wpływ na ekspresję niektórych genów, w tym genów związanych z opornością na niektóre typy chemioterapii – jak gen MGMT. Poprzez transfekcję komórek glejaka (TGAB) sekwencją kodującą GAB, dr Monika Szeliga wykazała, że komórki TGAB są bardziej wrażliwe na działanie związków alkilujących (TMZ i BCNU) niż komórki

kontrolne: dzięki T98G i transferowane pustym wektorem TpcDNA, czego wyrazem było obniżenie ilości i aktywności białka MGMT w niesprecyzowanym bliżej mechanizmie molekularnym. Testowana hipoteza zmian metylacji wysp CpG nie znalazła potwierdzenia w warunkach doświadczalnych. Interesującym byłoby sprawdzenie innych hipotez, które Habilitantka sugeruje: możliwość wpływu na aktywację kinazy Akt, czy inne szlaki sygnałowe.

Pewną konsekwencją w/w badań była trzecia z prac – opublikowana w *Tumour Biol.* 2014 Mar;35(3): 1855- 1862. (doi: 10.1007/s1 3277-01 3-1 247-4.), gdzie wykorzystano linie komórkowe wykonane w trakcie realizacji opisanych powyżej eksperymentów, jak również wytworzono nowe linie genetycznie modyfikowanych komórek glejaków w celu potwierdzenia roli poszczególnych izoform glutaminaz w indukcji lub hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych. Wyniki te potwierdziły hipotezę przyjmującą, że białka kodowane przez gen GLS odgrywają w procesie proliferacji przeciwstawną rolę do białek powstających z genu GLS2.

W odróżnieniu od trzech w/w publikacji – czwarty artykuł będący składnikiem doniesienia naukowego – ma bardziej kliniczny charakter. Zwraca jednak uwagę mała liczba analizowanych guzów neuroendokrynych. Mimo, że są one stosunkowo rzadko spotykane, to wyliczenia statystyczne grup złożonych z 4 czy nawet 3 przypadków (analiza przeżycia) wydają się być mocno dyskusyjne. Nasuwa się pytanie dlaczego Autorka posłużyła się wyłącznie mrożonym materiałem biologicznym? W chwili obecnej istnieją możliwości izolacji RNA również z archiwalnych bloczków parafinowych. Wykorzystanie tego typu materiału mogłoby znacznie wzbogacić pracę. Tym niemniej wyniki pracy są interesujące pomimo dość skromnej liczby analizowanych pacjentów.

Reasumując, osiągnięcie naukowe "Izoformy glutaminaz w komórkach glioblastoma i guzach neuroendokrynych" jest kompilacją czterech oryginalnych prac opublikowanych w czasopiśmie o międzynarodowym zasięgu i sumarycznym IF = 14,944 (MNiSW = 125 punktów). We wszystkich publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia Habilitantka jest pierwszym autorem. Oryginalność i jakość naukowa omawianych publikacji jest wysoka, w każdej z nich dr n. med. Monika Szeliga była twórcą koncepcji i analizy wyników realizowanych badań, których dużą część wykonała samodzielnie. Jest również autorem korespondującym w każdym z artykułów, co potwierdza jej kluczowy udział w powstaniu i publikacji tych prac. Znajduje to również potwierdzenie w oświadczeniach współautorów poszczególnych

publikacji. Swój procentowy udział w realizacji poszczególnych artykułów Habilitantka oszacowała na 85% (w dwóch), 80% oraz 50% w pozostałych, co w zupełności spełnia kryteria stawiane dla tego typu opracowań.

Wnioski końcowe

Podsumowując, pragnę podkreślić, że dorobek naukowy i osiągnięcia habilitacyjne dr n. med. Moniki Szeliga charakteryzują się wysokim poziomem naukowym i są znaczące. Oryginalne wyniki i zademonstrowany warsztat badawczy są gwarantem dalszego rozwoju naukowego Habilitantki. Dodając do tego kwalifikacje dydaktyczne i organizacyjne, uważam, że dr n. med. Monika Szeliga spełnia kryteria i wymogi stawiane przed osobą ubiegającą się o tytuł doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie biologia medyczna, określone Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki w aktualnie obowiązującym brzmieniu.

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie wniosek o dopuszczenie dr n. med. Monikę Szeliga do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Stepulak

