

Prof. dr hab. med. Maria Małgorzata Winnicka

Białystok 22. 10. 2012 r.

Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej

Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Ocena dorobku naukowego dr Beaty Pająk

Dr med. Beata Pająk jest absolwentką Międzywydziałowego Studium Biotechnologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, które ukończyła w roku 2003.

Fascynacja publikacją dr Doroty Hoffman-Zacharskiej z Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie na temat molekularnych metod wykrywania genetycznego podłoża chorób neurodegeneracyjnych stała się tak silną inspiracją dla studentki III roku, iż zwróciła się do Autorki publikacji o możliwość wykonania w Instytucie pracy magisterskiej. Obroniona w czerwcu 2003 roku z wynikiem bardzo dobrym praca magisterska pt.: „Próba oceny wpływu dodatkowych czynników genetycznych, polimorfizmu w sekwencji genów RAI 1 i ApoE, na wiek zachorowania w ataksji mózdkowo-rdzeniowej typu 2” zainicjowała kolejne etapy realizacji rzadko spotykanej pasji badawczej.

Już podczas realizacji pracy magisterskiej habilitantka otrzymała propozycję kontynuacji pracy naukowej w ramach studiów doktoranckich w SGGW w Warszawie. W czasie studiów doktoranckich dr Beata Pająk rozpoczęła badania nad procesami regulacyjnymi dotyczącymi przeżycia/śmierci komórek nowotworowych, które kontynuuje do chwili obecnej. W czasie studiów odbyła miesięczny staż naukowy COST 927 Action („The reversal of multidrug resistance In Mouse lymphoma L 5178, MDR/COLO 320 and COLO205 cell lines by flavonols and phenothiazines”) w Instytucie Mikrobiologii Medycznej i Immunologii Wydziału Medycyny Uniwersytetu w Szegedzie, Węgry. W laboratorium kierowanym przez prof. Josepha Molnara habilitantka wykonała badania mające na celu ocenę ekspresji białek z rodziny MDR (*multidrug resistance proteins*) w komórkach ludzkiego gruczolaka okrężnicy linii COLO 205, z powodu braku reakcji komórek COLO 205 na czynniki modyfikujące zależną od TNF- α aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Przeprowadzone przez habilitantką z niezwykłą konsekwencją badania wykazały, iż w komórkach nowotworowych, pomimo obecności funkcjonalnych receptorów TNF-R1

czynnik NF- κ B nie podlegał aktywacji pod wpływem swoistego liganda (TNF- α), a brak ekspresji białek MDR w komórkach COLO 205 wskazywał na istnienie innego, specyficznego dla tych komórek mechanizmu molekularnego. Ten ważny wniosek stał się inspiracją do sformułowania hipotezy, zakładającej udział innych białek w obserwowanym efekcie, której weryfikację dr Beata Pająk rozpoczęła podczas realizacji pracy doktorskiej i kontynuuje w obecnie prowadzonych badaniach.

Kolejny etap pracy doktorskiej habilitantki realizowany w ramach grantu promotor-skiego dotyczył identyfikacji mechanizmów, które warunkują „ucieczkę immunologiczną” komórek nowotworowych COLO 205 oraz substancji indukujących śmierć tych komórek na drodze apoptozy zależnej od TNF- α . Badania te doprowadziły do wyciągnięcia oryginalnego wniosku, iż prawdopodobnym sprawcą zahamowania transdukcji sygnały apoptogennego w linii komórek COLO 205 jest kompetycyjny inhibitor kaspazy 8 – białko cFLIP.

Poszukiwania nietoksycznych substancji, które mogłyby przywrócić naturalny proces eliminacji komórek nowotworowych przez ligandy śmierci takie jak TNF- α , nie wykazujących niepożądanych działań na komórki prawidłowe, doprowadziły habilitantkę do wyselekcjonowania związków pochodzenia naturalnego takich jak: gallusan epigallo-katechiny (EGCG), wyciąg z zielonej herbaty (GTE), partenolid, maślan sodu, czy pochodne bisindolyłmaleimidu.

Modulacja szlaków sygnałowych przeżycia i śmierci komórek jako potencjalnego narzędzia eliminacji komórek nowotworowych przez wymienione związki stała się głównym tematem badawczym, którym habilitantka zajmuje się do chwili obecnej. Opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych wyniki przeprowadzonych przez dr Beatę Pająk badań stały się podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Poza głównym nurtem badań dr Beata Pająk od kilku lat uczestniczy również w realizacji innych projektów badawczych. W ramach współpracy z zespołem prof. Arkadiusza Orzechowskiego z SGGW od czasu studiów doktoranckich habilitantka uczestniczy w badaniach dotyczących identyfikacji mechanizmów molekularnych oddziały-wania czynników zaangażowanych w regulację procesów miogenezy. W ramach współpracy z zespołem prof. Romualda Zabielskiego uczestniczyła w badaniach dotyczących oddziaływa-nia substancji pokarmowych na przebudowę komórek przewodu pokarmowego nowonarodzo-nych prosiąt. Podjęcie pracy w Zakładzie Ultrastruktury Komórki Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN stworzyło habilitantce nowe możliwości współpracy, które zaowocowały licznymi publikacjami w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynaro-dowym.

Na dorobek naukowy habilitantki składają się łącznie 103 publikacje naukowe, wśród których znajdują się 32 pełnotekstowe prace naukowe opublikowane w recenzowanych czasopismach w tym 2 monografie. Dorobek uzupełnia 1 publikacja popularno-naukowa pt.: „Mechanizmy powstawania nowotworów”. Wszystkie prace oryginalne stanowiące 19 pozycji zostały opublikowane w czasopismach posiadających *Impact Factor*, prace pogładowe stanowią 11 pozycji (w tym 2 w czasopismach posiadających *Impact Factor*), rozdziały w anglojęzycznych monografiach stanowią 2 pozycje, a doniesienia zjazdowe 71 pozycji. Łączna liczba punktów *Impact Factor* dla opublikowanych prac wynosi **60.884**, liczba cytowań **149**, a indeks Hirscha **7**.

Analiza dorobku naukowego dr Beaty Pająk wskazuje na harmonijny rozwój naukowy habilitantki w zakresie zarówno metodologii badań (rozwój warsztatu badawczego) jak i umiejętności właściwego wyznaczania adekwatnych celów badań. Już praca doktorska (uhonorowana grantem KBN i nagrodą) została bardzo wysoko oceniona jako nowatorski wkład badawczy w dziedzinie biologii molekularnej komórek nowotworowych. Kolejne etapy rozwoju kariery dr Beaty Pająk potwierdziły Jej umiejętności oraz przyniosły istotne dokonania publikacyjne. Wśród wielu zaprezentowanych publikacji dr Beata Pająk jest pierwszym autorem, co stanowi determinantę Jej kreatywnego wpływu na zrealizowane badania.

Na szczególne podkreślenie zasługują następujące cechy zaprezentowanego dorobku naukowego:

- Spójność tematyki, w której testowane hipotezy badawcze jednocześnie znamionowały się znaczącymi walorami poznawczymi i praktycznymi.
- Konsekwentna realizacja ambitnych celów naukowych poparta szeregiem istotnych publikacji w czasopismach specjalistycznych o zasięgu międzynarodowym.

Aktywność naukowa dr Beaty Pająk została dostrzeżona przez środowisko naukowe, dlatego też, została Ona nominowana do funkcji recenzenta w liczących się czasopismach naukowych takich jak: *Apoptosis*, *Cancer Letters*, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *Folia Histochemica and Cytobiologia*, *Journal of Physiology and Pharmacology*, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *Chemical Biology and Drug Design*, *European Journal of Pharmacology*, *Pharmacological Reports*, *Journal of Biomedicine and Biotechnology* oraz *Tumor Biology*. Tego rodzaju nobilitacja w środowisku naukowym stanowi istotny wyznacznik jakościowy osiągnięć merytorycznych habilitantki.

Na uwagę zasługują liczne nagrody i wyróżnienia habilitantki, a szczególnie I miejsce w Kategorii Prac Doktorskich w II Edycji Ogólnopolskiego Konkursu Prac Naukowych organizowanego przez Fundację Hasco-Lek, I miejsce w konkursie Forum Młodych XLIV Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biochemicznego w Łodzi, stypendium MNiSzW dla młodych wybitnych naukowców, czy stypendium habilitacyjne Fundacji L'Oreal „Dla kobiet nauki”.

Niezwykła aktywność naukowa dr Beaty Pająk znalazła również wyraz w postaci udziału w realizacji 8 projektów badawczych, w tym projektu międzynarodowego oraz w kierowaniu projektem NN 401 031 538 „Rola jonów wapniowych w pro-/anty-apoptycznej aktywności klasteryny w komórkach nowotworowych na przykładzie komórek ludzkiego raka okrężnicy linii COLO 205”.

Analizując działalność organizacyjną dr Beaty Pająk na wyróżnienie zasługuje kierowanie od roku 2009 Laboratorium Genetycznym, BioVectis/Kucharczyk TE, którego działalność jest ukierunkowana na oznaczanie polimorfizmu genów w materiale pobranym od pacjentów onkologicznych, służące kwalifikacji pacjentów do stosowania terapii celowanej.

Na uwagę zasługuje również współorganizowanie i prowadzenie przez habilitantkę w roku 2009 kursu „Komórki zwierzęce, transfekcja i wyciszanie genów” oraz członkostwo w towarzystwach naukowych. Szczególną wartość ma aktywność dydaktyczno-naukowa realizowana jako funkcja opiekuna praktyk studenckich oraz promotorstwo prac magisterskich. W czasie studiów doktoranckich habilitantka prowadziła zajęcia dydaktyczne z takich przedmiotów jak: Fizjologia zwierząt, Kultury in vitro i Biologia rozwoju dla studentów kierunku Biologia i Międzywydziałowego Studium Biotechnologii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW. W ramach współpracy z prof. dr hab. B. Lesyngiem dr Beata Pająk brała udział w prowadzeniu wykładów i ćwiczeń z zakresu medycyny molekularnej dla studentów Kierunku Bioinformatyka i Analiza Systemów Wydziału Matematyki Uniwersytetu Warszawskiego.

Ocena pracy habilitacyjnej zaprezentowanej jako cykl publikacji zatytułowany „Modulacja szlaków sygnałowych przeżycia i śmierci komórek jako potencjalnego narzędzia eliminacji komórek nowotworowych.”

W skład zaprezentowanej rozprawy habilitacyjnej wchodzi 5 pełnotekstowych prac naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach o łącznym *Impact Factor* 19.089 wśród których 4 pozycje stanowią prace oryginalne, a 1 publikacja pt.: „Klasteryna i wapń” została opublikowana w postaci rozdziału na zaproszenie w *Adv Cancer Res, Clusterin Elsevier* 104:33-52, 2009. Na szczególne podkreślenie zasługuje zaproszenie dr Beaty Pająk przez wybitnych ekspertów, w tym światowego lidera w badaniach nad

klasteryną prof. Saverio Bettuzzi do współredagowania dwutomowej monografii dotyczącej tego białka, wskazujące na ekspercką rolę habilitantki w tej dziedzinie.

Celem zaprezentowanego cyklu prac były badania dotyczące związków modulujących przeżycie i śmierć komórek nowotworowych linii COLO 205:

- maślanu wapnia
- bisindolylmaleimidu-IX
- gallusanu epigallokatechiny (EGCG)
- wyciągu z zielonej herbaty (GTE)

Autorka publikacji przeprowadziła rzetelną i drobiazgową analizę mechanizmu wpływu maślanu sodu na proces apoptozy komórek ludzkiego gruczolaka okrężnicy linii COLO 205 wykazując, iż związek ten uwrażliwia komórki COLO 205 na apoptozę wewnątrzpochodną oraz zależną od TNF-a apoptozę zewnątrzpochodną. Ponadto wykazała, iż kluczową rolę w niewrażliwości komórek COLO 205 na indukcję apoptozy zewnątrzpochodnej przez TNF-a odgrywa białko cFLIP.

W badaniach dotyczących wpływu maślanu sodu na wewnątrzpochodny szlak apoptozy komórek COLO 205 habilitantka wykazała, iż kluczową rolę w aktywacji tego szlaku odgrywa zaburzenie równowagi pomiędzy należącymi do rodziny Bcl białkami pro- i antyapoptycznymi.

W badaniach dotyczących pro-apoptycznych właściwości bisindolylmaleimidu-IX dr Beata Pająk wykazała, iż związek ten toruje zewnątrzpochodną oraz inicjuje wewnątrzpochodną drogę apoptozy opornych na TNF-a komórek nowotworowych linii COLO 205. Habilitantka wykazała, iż korzystny efekt białka Bis-IX wiązał się ze zmniejszeniem ekspresji białka cFLIP w kompleksie receptora TNF-aR1. Na podstawie szczegółowych badań Autorka publikacji wysunęła wniosek, iż zależna od Bis-IX aktywacja drogi mitochondrialnej oraz uwrażliwienie komórek COLO 205 na działanie TNF przebiegają dwoma różnymi szlakami, których efekty działania ulegają sumowaniu.

Zaskakujące, niezgodne z powszechnie panującą opinią o korzystnym efekcie wyciągu z zielonej herbaty i EGCG w leczeniu chorób nowotworowych, okazały się wyniki badań dotyczące wpływu tych substancji na badaną przez habilitantkę linię komórek COLO 205. Dr Beata Pająk wykazała, iż związki te pobudzają proliferację i zwiększają przeżywalność komórek COLO 205 oraz, iż efekt ten jest zależny od obecności tratw (raftów) lipidowych w błonie komórek COLO 205. Poszukiwania molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za ten zaskakujący efekt wykazały, iż jest on związany z aktywacją szlaku MEK/ERK1/2 oraz ze wzrostem ekspresji klasteryny. Wyniki tych badań mają istotny aspekt

praktyczny, nie tylko dlatego iż przełamują utarte przekonania, ale wyjaśniają przyczyny osłabienia efektu chemioterapii u osób nadmiernie spożywających zieloną herbatę.

Znaczenie klasteryny w aktywacji pro- i antyapoptotycznych szlaków przekazywania wewnątrzkomórkowego stało się inspiracją dla habilitantki do opisanie roli jonów wapnia jako potencjalnego regulatora pro- i antyapoptotycznej funkcji tego białka oraz do rozpoczęcia badań mających na celu weryfikację założonej hipotezy. Dotychczasowe, wysłane do druku w czasie składania ocenianej dokumentacji wyniki badań, aktualnie dostępne w formie pdf wskazują, iż stosowany od dawna lek antyarytmiczny, inhibitor kanału wapniowego werapamil istotnie statystycznie nasila śmierć komórek nowotworowych linii COLO 205. Ponadto, badania te wykazały, iż śmierć komórek linii COLO 205 następuje głównie na drodze autofagii poprzedzającej martwicę, a rzadziej na drodze apoptozy. Planowane przez habilitantkę dalsze badania dotyczące tego zjawiska mają na celu poznanie jego molekularnego mechanizmu oraz określenie w tym procesie roli klasteryny.

Należy mieć nadzieję, iż kontynuacja przez habilitantkę tych obiecujących badań wykaże, czy zmiany ekspresji i wewnątrzkomórkowej lokalizacji klasteryny, poprzez farmakologiczną modulację homeostazy wapniowej komórek, stanie się skutecznym narzędziem w walce z chorobami nowotworowymi.

Badania dr Beaty Pająk wpisują się w najnowszy nurt poszukiwań odpowiedzi na pytania o przyczyny niepowodzeń terapii przeciwnowotworowych oraz przekonują, iż strategią, która może przełamać brak efektu terapeutycznego, jest podjęcie próby odblokowania nieaktywnych w komórkach nowotworowych szlaków przekazywania sygnału dla naturalnych ligandów śmierci takich jak badany przez habilitantkę TNF-a, czy FasL oraz wprowadzenie do terapii leków działających na ich swoiste receptory, bądź szlaki wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnału.

Na słowa szczególnej pochwały zasługuje precyzyjność, a jednocześnie kompleksowość ujęcia tematów badań. Każdą kolejną hipotezę badawczą habilitantka weryfikowała przy użyciu różnorodnych metod, w większości molekularnych, co świadczy o doskonałym i wszechstronnym opanowaniu nowoczesnego warsztatu badawczego.

Konsekwencja prowadzonych badań, umiejętność wyciągania logicznych wniosków, inicjujących kolejne pytania i hipotezy oraz nie przypadkowa ich realizacja w wiodących ośrodkach naukowych we współpracy z wybitnymi naukowcami, świadczy o niezwyklej determinacji i konsekwencji w realizacji założonych celów badawczych oraz o wyjątkowych predyspozycjach dr Beaty Pająk do prowadzenia badań naukowych i czyni Ją w pełni

dojrzałym młodym naukowcem, doskonale przygotowanym do kierowania zespołem naukowym.

Oprócz wszechstronnej wiedzy w dziedzinie prowadzonych badań, umiejętności stawiania hipotez i adekwatnego dobierania metod badawczych w celu ich weryfikacji oraz niezwyklej dociekliwości i konsekwencji w poszukiwaniu odpowiedzi na zadane pytania, habilitantka posiada również umiejętności w zarządzaniu projektami badawczo-rozwojowymi potwierdzone certyfikatami zaliczonych w roku 2011 szkoleń „Kompetencje menadżerskie w zarządzaniu projektami badawczo-rozwojowymi” w ramach programu „Kapitał Ludzki” i „Metodyka zarządzania projektami PRINCE 2 Fundation”.

W podsumowaniu stwierdzam, iż wysoko oceniam dorobek naukowy oraz cykl publikacji stanowiący podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego dr Beaty Pająk i wnioskuję do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie kandydatki do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

KIEROWNIK
Zakładu Patologii Ogólnej i Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku


prof. dr hab. Maria Małgorzata Winnicka