



Prof. med. dr hab. Krzysztof Szyfter (*emeritus*)

Ocena osiągnięcia, dorobku naukowego oraz pozostałej działalności
dr Urszuli Oleksiewicz ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego
w dziedzinie nauki medycze i nauki o zdrowiu, dyscyplinie nauki medycze

Preliminaria

W wyniku powołania przez Kanclerza Kolegium Nauk Medycznych UMP na recenzenta postępowania habilitacyjnego dr U. Oleksiewicz otrzymałem komplet materiałów pozwalających w pełni na ocenę wszystkich elementów składowych w procedurze habilitacyjnej.

Z Kandydatką nigdy osobiście się zetknąłem, co sprawia, że jestem całkowicie wolny od wszelkich osobistych sympatii i antypatii, które mogłyby wpłynąć na formułowanie opinii.

Etapy rozwoju naukowego

Początki edukacji akademickiej wyznaczają studia licencjackie i magisterskie zakończone odpowiednio w roku 2004 i 2006. Studia toczyły się na kierunku biotechnologia na Wydziale Biologii UAM w Poznaniu. Po jednym roku, nieoświetlonym w dokumentacji, Kandydatka znalazła się na University of Liverpool, Wielka Brytania, co można rozumieć jako podjęcie studiów doktoranckich w zakresie badań nad nowotworami. Zakładam tutaj pewną przystawalność systemów organizacji działalności naukowej w Polsce i Wielkiej Brytanii. W każdym razie 21 lipca 2011r. doktorat obroniła na Wydziale Nauk o Życiu i Zdrowiu Uniwersytetu w Liverpoolu (Faculty of Health and Life Sciences, University of Liverpool, UK). Tytuł rozprawy doktorskiej brzmiał: "The investigations into the role of cytoglobin in lung carcinogenesis". Promotorami pracy doktorskiej byli: dr George Xinarianos i Prof. John Field. Do końca roku 2021 dr Oleksiewicz pozostawała w Liverpoolu na stażu podoktorskim. Po powrocie do kraju (2012) związała się z Zakładem Immunologii Nowotworów (Katedra Biotechnologii Medycznej) UMP im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, wykonując pracę badawczą na różnych stanowiskach i tam pracuje aktualnie.

Bibliometria

Kandydatka wykazała dorobek publikacyjny w liczbie 21 publikacji, z których 3 zestawiono w postaci osiągnięcia. Punktacja osiągnięcia daje łącznie wartość $if = 18,7$ a ministerialna (Min) przyniosła 320 punktów. Dalszych 18 publikacji dzieli się po połowie na prace

oryginalne i poglądowe. Wszystkie prace oryginalne ukazały się w czasopismach posiadających współczynnik impact factor (if) w zakresie 2,6 - 9,8, łącznie 51,8. Punkty ministerialne (Min): 735. Z kolei 7 z 9 prac poglądowych powiększyło wartości numeryczne o wartość if = 45,8 i Min = 720. Łącznie wartość punktowa dorobku naukowego (bez włączenie punktacji osiągnięcia habilitacyjnego) wynosiła if = 97,6 i Min = 1455. Pozostałe wyniki naukometryczne przedstawiają się następująco: indeks Hirscha = 13 a liczba cytowań 591. Sześciokrotnie Kandydatka występowała na pierwszym miejscu w grupie autorskiej. Dla porządku dodam, jeszcze, że odnotowałem bogatą aktywność zjazdową, co rozumiem jako nieprzemijającą chęć konfrontacji własnych wyników z innymi spojrzeniami. Placówki naukowe różnie określają wymagania stawiane kandydatom. Niemniej mogę stwierdzić, że wyniki naukometryczne uzyskane przez dr Oleksiewicz przedstawiają się bardzo przyzwoicie i zdecydowania przekraczają znane mi wymogi bibliometryczne.

Ocena osiągnięcia naukowego

Kandydatka przedstawia cykl trzech publikacji pod zbiorczym tytułem „Rola białek z rodziny Krüppel-associated box zinc fingers (KRAB-ZNF) w komórkach macierzystych i nowotworowych”. Rzeczywiście jest to zwarta całość przynosząca kolejne ustalenia. Zwracam uwagę na zwartość, bo już trafiały mi się do oceny cykle prac, gdzie kandydat/ka nieźle musiał się namęczyć, by wykazać ich łączność tematyczną. Cokolwiek brakuje mi tym cyklu pracy poglądowej naświetlającej zagadnienie. Spojrzenie na listę publikacji wskazuje, że pozycje [11] czy [12] mogłyby pełnić taką rolę. Wydaje mi się, że odległe miejsce w stawce autorów w jednej z prac a ostatnie w drugiej (być może sugerujące nadrzędną rolę) powstrzymały przed włączeniem „przeглядówek” do osiągnięcia.

Punktem wyjścia do podjęcia badań była obecna w literaturze sugestia, że komórki odpowiedzialne za inicjowanie procesu nowotworzenia posiadają wiele wspólnych cech z normalnymi komórkami macierzystymi. Zatem celem badań była analiza roli KRAB-ZNF (ang. Krüppel-associated box zinc finger) w biologii nowotworów (A1, *Stem Cell Reports*, 2017). Przypuszcza się, że białka z rodziny KRAB-ZNF mogą spełniać podobną funkcję zarówno w normalnych, jak i w nowotworowych komórkach macierzystych wpływając tym samym na onkogenezę. Założono, że wybrane czynniki transkrypcyjne KRAB-ZNF są specyficzne dla komórek nowotworowych. Białka KRAB-ZNF należące do największej rodziny regulatorów transkrypcyjnych i represorów epigenetycznych u kręgowców wyższych i tym samym oczekiwany był ich udział w regulacji przebiegu procesu nowotworzenia. Białka KRAB-ZNF należą do największej rodziny regulatorów transkrypcyjnych i represorów epigenetycznych u kręgowców wyższych. Rodzina ta składa się z ponad 380 białek i 800 izoform o wysokim stopniu podobieństwa. Ubolewałem wyżej nad brakiem pracy wprowadzającej w biologię białek KRAB-ZNF ale wczytanie się w autoreferat i wprowadzenia

kl

do publikacji stanowiących osiągnięcie pozwala na poruszanie w obrębie zagadnienia nie najbliższego moim zainteresowaniom badawczym.

Nowatorstwo pomysłu polegało na odstępieniu od na ogół stosowanemu badaniu pojedynczego czynnika związanego z białkami KRAB-ZNF w wybranym typie nowotworu lecz obejmowało uwagę aktywność szeregu białek w wielu nowotworach. Takie podejście jest obecnie w pełni możliwe poprzez dostęp do baz danych i późniejszą analizę bioinformatyczną. Dynamika procesu nowotworzenia obejmuje epigenetykę i modelowanie chromatyny, co z kolei wpływa na sprawność procesów transkrypcyjnych. Równolegle prowadzono badania na komórkach nowotworowych i macierzystych, bowiem komórki odpowiedzialne za inicjowanie procesu nowotworzenia posiadają wiele wspólnych cech z normalnymi komórkami macierzystymi. Badania wykazały, że czynniki KRAB-ZNF razem z białkiem KAP1 indukują zmiany epigenetyczne prowadzące do heterochromatyzacji i wyciszenia ekspresji genów. Dalej białka z domeną KRAB mogą się przyczyniać do zmian w profilu metylacji DNA komórek macierzystych, stabilizując tym samym sygnaturę transkrypcyjną oraz fenotyp tych komórek. Zidentyfikowano grupę 24 czynników KRAB-ZNF o istotnie zwiększonej ekspresji w komórkach iPS, które dalej ulegają hipermetylacji w komórkach o charakterze macierzystym. Wskazane w badaniach czynniki KRAB-ZNF przyczyniają się do utrzymania pluripotencji w ludzkich komórkach macierzystych. Dzięki temu określono motywy DNA oraz geny, do których wiążą się wybrane KRAB-ZNF. Większość pików wskazująca na wiązanie KRAB-ZNF znajdowało się w okolicy 3' końca genów, co może sprzyjać ochronie przed potencjalnie szkodliwą rekombinacją homologiczną. Białka z domeną KRAB mogą indukować stabilną represję genów poprzez depozycję H3K9me3 i hipermetylację DNA w obrębie związanego przez nie locus podczas reprogramowania do komórek iPS.

W kolejnej publikacji (A2, *Int J Molec Sci*, 2023a) uwagę skupiono na jednym ze zidentyfikowanych czynników KRAB-ZNF a mianowicie *ZNF714*, wykazującym nadekspresję w różnych typach nowotworów. Zauważono obniżenie poziomu metylacji w obrębie promotora genu *ZNF714* w wielu typach raka w porównaniu do tkanki zdrowej.

Zaobserwowano, że wysoki poziom *ZNF714* koreluje z niskim poziomem infiltracji guza przez większość komórek układu immunologicznego. *ZNF714* ulega podwyższeniu w wielu typach raka i koreluje z różnymi parametrami klinikopatologicznymi takimi jak histopatologia, stopień zaawansowania i odróżnicowania nowotworów. Bazując na naszych analizach można założyć, że zwiększony poziom ekspresji *ZNF714* może wynikać z hipometylacji w promotorze tego genu, amplifikacji, oraz indukcji transkrypcji poprzez NFYB.

Innym czynnikiem KRAB-ZNF o podwyższonej ekspresji w różnych typach raka zidentyfikowanym w naszej analizie danych TCGA był *ZNF643*. *ZNF643* został wybrany do dalszych analiz ze względu na istotną korelację pomiędzy jego ekspresją a danymi

klinikopatologicznymi (A3, *Int J Molec Sci*, 2023 b). Zmiany w ilości kopii *ZNF643* przy nielicznych mutacjach pojawiały się znacznie częściej i pozytywnie korelowały z poziomem ekspresji tego genu w 19 z 20 typach raka. Dla identyfikacji genów regulowanych przez *ZNF643* przeprowadzono analizę wspólnych motywów, która tych miejsc wskazała na krótką sekwencję konsensusową GGCTGGA wiążaną przez czynnik *ZNF643*. Jednym ze zidentyfikowanych genów, w pobliżu którego wiąże się *ZNF643* jest *TNFSF9* o charakterze genu supresorowego. Ekspresja *TNFSF9* rośnie pod wpływem wyciszenia *ZNF643*. Drugim zidentyfikowanym genem jest *SYNE3*, którego ekspresja maleje po wyciszeniu *ZNF643* i rośnie w przypadku nadekspresji *ZNF643*. Poziom ekspresji *ZNF643* ma znaczenie w wielu typach nowotworów.

Wyniki badań po raz pierwszy opisują udział konkretnych czynników KRAB-ZNF w komórkach macierzystych (*ZNF114*, *ZNF483*, *ZNF589*) i nowotworowych (*ZNF714*, *ZNF643*), zarówno w kontekście molekularnym, jak i fenotypowym. Badania prowadzone na modelach raka płuca i raka piersi nie potwierdziły wstępnego założenia o uniwersalnej roli analizowanych przeze mnie czynników KRAB-ZNF w komórkach. Ich funkcjonowanie jest w dużej mierze zależne od kontekstu molekularnego komórki. Wyniki te można było uzyskać tylko dzięki zastosowaniu szerokiej baterii metod z zakresu biologii molekularnej, komórkowej i bioinformatyki. Spojrzenie na całość uzyskanych wyników wskazuje na ich całkowicie nowatorski charakter. Przeprowadzone badania mają charakter podstawowy ale są zaadresowane pod rozwinięcie w kierunku klinicznym.

Dodam, że ocena osiągnięcia naukowego, na które składają się opublikowane prace nie daje wiele możliwości recenzentowi. Ich wartość naukową już ocenili redaktorzy czasopism i powołani przez nich recenzenci i nie jest naszą rolą weryfikowanie ich ocen. Należy raczej skupić się na znaczeniu, jakie mają wyniki w swojej dziedzinie wiedzy i jak przyjął je świat nauki. Niemniej stwierdzam, że przeprowadzone badania są istotne do postępu w zakresie rozumienia regulacji procesu nowotworowego i zostały z zainteresowaniem przyjęte przez świat nauki.

Ocena dorobku naukowego

Ocena dorobku naukowego w przeciwstawieniu do osiągnięcia jest trudniejsze bowiem obejmuje kilkanaście publikacji powstałych w kilku polskich, angielskich i amerykańskich ośrodkach badawczych w przeciągu kilkunastu lat. Niemniej dominantą badań była biologia i genetyka nowotworów. Kandydatka dobrze postąpiła przypisując publikacje do kolejno następujących po sobie miejscach prowadzenia badań.

Z dziewięciu publikacji oryginalnych na czele należy postawić 3 dokładnie powiązane merytorycznie z tematyką osiągnięcia naukowego a mianowicie rolą białek KRAB-ZNF w regulacji procesu nowotworzenia. Rodzina genów KRAB-ZNF bierze udział w epigenetycznej supresji nowotworów. Pierwsza chronologicznie praca ukazała się *Molecular Oncology*

(2019). Publikacja jest wieloautorska a nazwisko dr Oleksiewicz znalazło się na końcu, co może oznaczać przejście z pozycji głównego wykonawcy badań na pozycję lidera grupy. Rodzina genów KRAB-ZNF składa się z dużej grupy o wysokiej homologii, genów izoformicznych i pseudogenów. Ich funkcja opisywana jako supresja epigenetyczna współdziała z modelowaniem chromatyny w kierunku kondensacji. W oparciu o zbiór danych zawartych w TCGA technikami bioinformatycznymi przebadano 6727 tkanek normalnych i pochodzących z 16 nowotworów. Wykazano korelację ekspresji KRAB-ZNF z przeżywalnością pacjentów, histologią nowotworu i typologią molekularną. Publikacja ta przyniosła niezłą wartość cytowań równą wartości $n = 35$.

Kontynuację badań przedstawiono w publikacji, która ukazała się w *Bioinformatics* (2020). Dodatkowo ustalono asocjację ekspresji genów grupy KRAB –ZNF z całkowitym poziomem metylacji DNA oraz statusem poszczególnych izoform badanych genów. Wyniki obu tych publikacji wykorzystano do dalszych badań.

Praca wieloautorska opublikowana w *Current Oncology* (2022) objęła badaniami 6 genów (*ZFP28*, *ZNF132*, *ZNF418*, *ZNF426*, *ZNF540*, and *ZNF880*). Wykazano obniżenie ekspresji tych genów tkankach nowotworowych zależne od lokalizacji nowotworu. Znaczącym aspektem badań było spojrzenie porównawcze na nowotwory związane z infekcją HPV i niezależne od tego wirusa. Wykazano, że ekspresja *ZNF540* znacząco koreluje z infekcją HPV. Tym samym *ZNF540* może służyć jako biomarker nowotworzenia w nowotworach anogenitalnych oraz głowy szyi, gdzie infekcja HPV często ma miejsce. Inna praca z tego cyklu (*Bioinformatics*, 2020) skupiła się na powiązaniu ekspresji genów KRAB-ZNF z takimi cechami komórek nowotworowych jak przeżywalność, globalny status metylacji DNA, ekspresja izoform KRAB ZNF.

Sprawozdawczość wymaga podziału na publikacje oryginalne i poglądowe. Tutaj trzeba jednak odstąpić od tej zasady, by przytoczyć dwie prace przeglądowe opublikowane w *Int J Molec Sci* (2021) i *Cancer & Diseases* (2022) ściśle powiązane z zagadnieniami przedstawionymi w Osiągnięciu a omawiające znaczenie i funkcję grupy genów KRAB-ZNF. Dodać warto, że pierwszym przypadku publikacja miała charakter artykułu na zaproszenie, co jest w cenie. Niewykluczone, że artykuł z *Seminars Cancer Biol* (2022) dotyczący ogólniejszych zagadnień, również ilustruje tezy oparte w części o wyniki z badań nad genami/białkami KRAB-ZNF. Przygotowanie w dosyć krótkim czasie trzech znaczących artykułów poglądowych wskazuje na dobre przygotowanie literaturowe do prowadzenia badań i jednocześnie na chęć dzielenia się posiadaną wiedzą.

Badania prowadzone na Uniwersytecie w Liverpoolu podczas realizowania doktoratu dotyczyły roli cytoglobiny w nowotworzeniu raka płuca. Chociaż Habilitantka kategoryzuje podział prac inaczej, to ja dostrzegam w tej grupie 4 publikacje. Widocznie nie wszystkie wyniki znalazły się w rozprawie doktorskiej i stąd ta rozbieżność spojrzenia. Kolejne

publikacje z tej kategorii pochodzą z *Human Molecular Genetics* (2013), *Cellular & Molecular Life Sciences* (2011), *Cancer* (2011) i *J of Cancer Research & Clinical Oncology* (2017).

W pracy doktorskiej analizowano rolę cytoglobiny (CYGB) w procesie nowotworzenia raka płuca. CYGB jest białkiem z rodziny globin zawierających hem. Badania prowadzono na materiale pierwotnym i liniach komórkowych raka płuca. Część linii wyprowadzono w trakcie badań. Wyniki potwierdziły obniżoną ekspresję i hipermetylację promotora CYGB w dużym panelu linii komórkowych i tkanek pochodzących od pacjentów z rakiem płuca. Po nadto, wskazano na to, że CYGB działa jak supresor nowotworzenia upośledzając proliferację, migrację i inwazję komórek. Pojawia się jednak podwójna rola CYGB w raku płuca.

Opublikowane wyniki nie pozostały bez echa, bowiem cytowania sięgały wartości 50 na publikację. Nie ulega wątpliwości. Że czas przepracowany w Liverpoolu dał bardzo solidne podstawy do dalszej działalności badawczej.

Powrót do Polski i przyjęcie pracy na UMP nie oznaczały natychmiastowego podjęcia badań w zakresie wskazanym przez osiągnięcie. W pierwszym okresie skupiono się na uporządkowaniu i przyswojeniu nowych technik badawczych a w tym bioinformatyki. Do tego celu wykorzystano krótkoterminowy (4 miesiące) staż w na Uniwersytecie w Houston, Texas, MD Anderson, Cancer Center. Lepiej nie można było trafić. Aktywność badawczą nie prowadzącą bezpośrednio do habilitacji dr Oleksiewicz pokrywa kilkoma pracami (*Cells*, 2021, *Wsp. Onkol*, 2015 2x) Wśród autorów pojawia się nazwisko prof. Wiznerowicza, w domyśle sterującego badaniami.

Udział w zdobywaniu środków na prowadzenie badań

Habilitantka uzyskała grant OPUS-9 na siedmioletnie prowadzenie badań. Zrozumiałe, że dało to spokojną realizację badań. NCN stawia bardzo wysokie wymagania przed aplikantami i jest gęste a dr Oleksiewicz sprostała skutecznie temu współzawodnictwu. Ponadto zdobyła grant uczelniany UMP „Młodzi Naukowcy” co także dowodzi pokonania konkurencji. Zatem mamy skutecznego pracownika nauki potrafiącego zadbać o aspekt materialny badań.

Działalność dydaktyczna, organizacyjna i ekspercka

Zajęć dydaktycznych jest sporo i to w zróżnicowanej formie. Odbiorcami zajęć kursowych są studenci biotechnologii medycznej uczestniczący w zajęciach z przedmiotów: inżynieria genetyczna, epigenetyka, biologiczne bazy danych i analiza publikacji naukowych. Zajęcia były prowadzone w formie wykładów, ćwiczeń i seminariów. Do tego trzeba dodać współtworzenie treści programowych, co sobie szczególnie cenie jako nowatorstwo a nie rutynę. Ponadto dochodzi jeszcze siedmiokrotna opieka nad pracami magisterskimi (w tym sześciokrotne promowanie), trzykrotna opieka nad pracami licencjackimi i opieka nad jedną pracą doktorską.

Po stronie organizacyjnej odnotowuję współtworzenie Zakładu Inżynierii Genetycznej.

Nagrody i wyróżnienia

Przebieg pracy naukowej dr Oleksiewicz nie był specjalnie szczodry w nagrody w formalnym znaczeniu tego słowa. Dwukrotnie Rektor UMP nagradzał osiągnięcia badawcze Habilitantki (2019, 2020). Na wczesnym etapie zaangażowania naukowego trzykrotnie (2013, 2015 i 2018) pojawiły się nagrody za wystąpienia zjazdowe. Nadto Habilitantka wyliczyła w tym dziale Autoreferatu 2 stypendia. Były to: trzyletnie stypendium doktoranckie z Fundacji na rzecz walki z rakiem płuca im. Roy'a Castle (Roy Castle Lung Cancer Foundation, Liverpool, UK), stypendium dla post-doc'a w ramach programu Welcome finansowanego przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej. Pierwsze z nich umożliwiło realizację pracy doktorskiej a drugi mocne stanięcie na nogach i wprowadzenie się w świat nauki polskiej po powrocie z Wielkiej Brytanii. W obu przypadkach były to realne nagrody i słusznym zabiegiem było ich przytoczenie w rzeczonym miejscu.

Wyżej użyłem sformułowania „formalne nagrody”. Celowo oddzielam je od rzeczywistej oceny opublikowanych wyników. Tę stanowi indeks cytowani, których Habilitantka odnotowała prawie 600. Bardzo dobry wynik, pokazujący, że badania nie toczyły się w próżni. Inni autorzy komentowali je, budowali na nich swoje założenia pracy, wspierali swoje wyniki.

Wniosek końcowy

Wkład wskazanego osiągnięcia naukowego do rozwoju uprawianej przez Habilitantkę dyscypliny naukowej bez wątpienia jest znaczący. Jest to uzupełnione przez wartościowy dorobek naukowy poza cyklem prac stanowiących dzieło habilitacyjne. Dostrzegam wyraźną harmonię w realizacji celu głównego, niezbędnych towarzyszących działań badawczych poszerzających horyzonty, pełne czerpanie z zasobów tkwiących w międzynarodowej współpracy badawczej i działania na rzecz pozyskiwania fundusz na badania.

Stwierdzam, że dr nauk med. Urszula Oleksiewicz spełnia wszystkie kryteria stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego określone w art. 219 ust.1 pkt 2, ustawy z dnia 20 lipca 2018 r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Na tej podstawie wnioskuję do Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytety im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o nadanie dr Urszuli Oleksiewicz stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie nauki medyczne.

Prof. med. dr hab. Krzysztof Szyfter

Poznań, 26.07.2024