



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 48
60-627 Poznań
tel. +48 61 846 6024
e-mail: marcin.schmidt@up.poznan.pl



WYDZIAŁ NAUK O
ŻYWNOCICI I ŻYWIENIU

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

Poznań, 4.04.2024

Recenzja pracy habilitacyjnej pt: „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomyczne” oraz ocena osiągnięć w pracy naukowo-badawczej, dydaktycznej i organizacyjnej dr n. med. inż. Eweliny Stelcer.

Podstawa wykonania recenzji

Recenzja została przygotowana na wniosek Kapituły Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w zakresie uchwały nr 348/2024 z dnia 2 lutego 2024r. w sprawie powołania komisji habilitacyjnej w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr n. med. Ewelinie Stelcer w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne, działającej na podstawie § 33a ust. 7 Statutu Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu oraz § 221 ust. 5 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie i nauce (Dz.U. 2023.742).

Pani dr n. med. inż. Ewelina Stelcer, odwołując się do § 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2021.478 z późn. zm.) wskazała we wniosku z dnia 4 września 2023 r. jako osiągnięcie naukowe będące podstawą do wszczęcia postępowania habilitacyjnego cykl powiązanych tematycznie trzech artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych. Ocena została przygotowana na podstawie dostarczonych mi materiałów zawierających autoreferat i wykaz osiągnięć naukowych pani dr n. med. inż. Eweliny Stelcer, opisujący zakres badań i dorobek naukowy habilitantki z okresu przed i po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, analizę bibliometryczną dorobku naukowego, oświadczenia współautorów wskazujące na ich merytoryczny wkład w powstanie artykułów naukowych zgłoszonych jako osiągnięcie naukowe, wspomniane artykuły naukowe wchodzące w skład cyklu, oraz artykuły naukowe z dorobku habilitantki osiągalne w wolnym dostępie.

Podstawowe dane o kandydatce

Habilitantka uzyskała tytuł magistra inżyniera na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu ukończywszy w 2013 roku studia na kierunku biotechnologia. Zarówno studia pierwszego, jak i drugiego stopnia ukończyła z wynikiem bardzo dobrym (w grupie 5% najlepszych absolwentów). Posiada stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna uzyskany 17 stycznia 2019r. na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, Wydział Lekarski, Centrum Biostruktury na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej pt: „Badanie mechanizmów różnicowania ludzkich, indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych w procesie chondrogenyzy”. Nie posiadam wiedzy czy kandydatka ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora habilitowanego. W latach 2014-2021 pani dr n. med. inż. Ewelina Stelcer pracowała na stanowisku młodszego asystenta w Pracowni Radiobiologii Wielkopolskiego Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Poznaniu. Jednocześnie w latach 2019-2021 uzyskiwała stanowisko post-doc'a w Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w ramach realizacji projektu pt. „Rola adropiny w regulacji funkcji fizjologicznej kory nadnerczy szczura” (projekt finansowany ze środków NCN – Opus 2017/25/B/NZ4/00065, kierownik projektu prof. dr hab. Marcin Ruciński). Od roku

2021 do chwili obecnej zajmuje stanowisko starszego specjalisty naukowo-technicznego w Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Swoje kwalifikacje zawodowe dodatkowo rozszerzyła ukończywszy w 2015r. kurs dla osób planujących, wykonujących doświadczenia na zwierzętach, uśmiercających oraz dla osób sprawujących opiekę nad zwierzętami przeprowadzony przez Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych uzyskując certyfikat nr 1770/2015.

Informacja o obowiązujących przepisach prawa i kryteriach oceny

Postępowanie o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr n.med. inż. Ewelinie Stelcer w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne zostało wszczęte w dniu 15 września 2023r., co oznacza, że jest ono procedowane wyłącznie w oparciu o przepisy zawarte w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020r. poz. 85, 374, 695, 875, 1086, z 2021r. poz. 159). Uważam, że dr n.med. inż. Ewelina Stelcer spełnia warunki formalne do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zawarte w art. 219 wspomnianej ustawy. Posiada stopień doktora (1) udokumentowany załączonym do dokumentów skanem dyplomu (załącznik nr 4 do wniosku). Posiada w dorobku osiągnięcia naukowe, stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauk medycznych (2) przedstawiony w wykazie osiągnięć naukowych (załącznik nr 2 do wniosku). W tym, cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych przedstawiony do oceny jako osiągnięcie naukowe pt: „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomyczne” omówione w auto-referacie (załącznik nr 1 do wniosku), oraz wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni (Warszawski Uniwersytet Medyczny, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu) i instytucji naukowej (Wielkopolskie Centrum Onkologii) (3) co dokumentują artykuły naukowe z dorobku habilitantki.

Dane naukometryczne i liczba publikacji

Pani dr n. med. inż. Ewelina Stelcer posiada łączny dorobek naukowy w postaci 26 artykułów naukowych o łącznym wskaźniku oddziaływania (IF): 77,266, wskaźniku MNiSW: 1485 punktów, liczbie cytowań: 279, oraz Indeks Hirscha w wysokości 9. W 14 pracach jest pierwszym autorem, a 19 to oryginalne prace twórcze. Na dorobek habilitantki, przed uzyskaniem stopnia doktora, składa się 17 prac o sumarycznym wskaźniku IF w wysokości 30,104 (MNiSW: 315 punktów), natomiast po uzyskaniu ostatniego awansu naukowego: 9 prac o sumarycznym wskaźniku IF w wysokości 47,162 (MNiSW: 1170 punktów; zmieniona punktacja czasopism). Pomimo niższej liczby prac powstałych po uzyskaniu stopnia doktora ich wskaźnik oddziaływania został, więcej niż, podwojony co przemawia za ich „większym” wkładem w rozwój dyscypliny nauki medyczne potwierdzając znaczący rozwój naukowy habilitantki od tego momentu. Jednocześnie trzeba podkreślić, że czasopisma naukowe w których te prace się ukazywały, w większości, plasują się w pierwszym kwartyle (Q1) rankingu JCR. Należy także jednoznacznie przyznać, że cały dorobek naukowy habilitantki jest ściśle związany z wiodącą tematyką badawczą realizowaną w jej miejscach pracy i w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Ocena cyklu tematycznie powiązanych artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe

Przedstawiony do oceny cykl tematycznie powiązanych artykułów naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe pod wspólnym tytułem: „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomyczne” składa się z trzech artykułów naukowych, zgodnych z definicją zawartą w § 9 rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 22 lutego 2019 r. w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej (Dz.U. 2022, poz. 661). Są to: Publikacja 1 - Stelcer, E., Milecka, P., Komarowska, H., Jopek, K., Tyczewska, M., Szyszka, M., Lesniczak, M., Suchorska, W., Bekova, K., Szczepaniak, B., Ruchala, M., Karczewski, M., Wierzbicki, T., Szaflarski, W., Malendowicz, L. K., & Rucinski, M. (2020). Adropin Stimulates Proliferation and Inhibits Adrenocortical Steroidogenesis in the Human Adrenal Carcinoma (HAC15) Cell Line. *Frontiers in endocrinology*, 11, 561370. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.561370>,

Publikacja 2 - Stelcer, E., Komarowska, H., Jopek, K., Żok, A., Iżycki, D., Malińska, A., Szczepaniak, B., Komekbai, Z., Karczewski, M., Wierzbicki, T., Suchorska, W. M., Ruchała, M., & Ruciński, M. (2022). Biological response of adrenal carcinoma and melanoma cells to mitotane treatment. *Oncology letters*, 23(4), 120. <https://doi.org/10.3892/ol.2022.13240>,

Publikacja 3 – Stelcer, E., Jopek, K., Błatkiewicz, M., Olechnowicz, A., Kamiński, K., Szyszka, M., Suchorska, W. M., & Ruciński, M. (2023). Gene expression profile of hiPSC-derived cells differentiated with growth factors, forskolin and conditioned medium from human adrenocortical cell line. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 10.17219/acem/168603. Advance online publication. <https://doi.org/10.17219/acem/168603>.

We wszystkich tych artykułach naukowych habilitantka odpowiedzialna była za współtworzenie koncepcji badań, przeprowadzenie badań *in vitro*, analizę i interpretację otrzymanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu. Pomysł i koncepcja badań, oraz analiza i interpretacja wyników wraz z przygotowaniem manuskryptu, są w mojej ocenie najistotniejszym aspektem prowadzenia badań naukowych. Stąd należy uznać rolę dr n. med. inż. Eweliny Stelecer jako wiodącą w powstaniu tych prac. Dodatkowo załączone oświadczenia współautorów potwierdzają jej wiodącą rolę w ich powstaniu. Należy zauważyć, że dr n.med. inż. Ewelina Stelcer jest w tych artykułach pierwszym i korespondencyjnym autorem. Bardzo rozbudowany zakres badawczy i metodyczny w pełni uzasadnia podjętą szeroką współpracę, której rezultatem są przedstawione do oceny wieloautorskie artykuły naukowe. Otwartość i umiejętność pracy w zespole, szczególnie z ekspertami z różnych dziedzin, jest niezmiernie cenna i konieczna do realizacji badań na wysokim poziomie naukowym. Artykuły naukowe wchodzące w skład cyklu posiadają łączną wartość wskaźnika Impact Factor w wysokości 10,555, łączną wartość wskaźnika MNiSW: 310 punktów i liczbę cytowań wg WoS: 16.

Dr n. med. inż. Ewelina Stelcer nie sformułowała jednoznacznie, w przedstawionym do oceny autoreferacie, nadrzędnej hipotezy badawczej i celu swojego osiągnięcia naukowego. Aczkolwiek, we wprowadzeniu wskazuje założenie (hipotezę), że linia komórkowa HAC15 będąc najbardziej wrażliwą na stymulację wszystkimi głównymi sekretagogami nadnerczy, takimi jak angiotensyna II, K⁺, kortykotropina (ACTH) i forskolina, które prowadzą do stymulacji biosyntezy hormonów nadnerczy stanowi najlepszy model w badaniach *in vitro* nad normalną funkcją komórek nadnerczy lub raka kory nadnerczy. Natomiast nadrzędnym celem jej osiągnięcia naukowego była charakterystyka biologii linii HAC15, w szczególności w kontekście odpowiedzi na stymulację hormonami. Cel ten zrealizowała i opisała w cyklu 3 artykułów naukowych.

W publikacji 1 zakładając, że adropina - obok adiponektyny, oreksyny, leptyny lub neuromedyny U - stanowi peptyd wpływający na aktywność kory nadnerczy habilitantka zbadała wpływ adropiny na podstawową (proliferacja) i wysoce specyficzną (steroidogeneza) aktywność biologiczną w linii HAC15. Dodatkowo przy użyciu specyficznych inhibitorów i mikromacierzowej analizy transkryptomicznej określiła wewnątrzkomórkowy mechanizm molekularny interakcji adropina-receptor GPR19. Kliniczne znaczenie uzyskanych wyników zweryfikowała poprzez bioinformatyczną analizę ekspresji genów kodujących adropinę (*ENHO*) i jej receptor (*GPR19*) w ludzkich prawidłowych nadnerczach w odniesieniu do raka kory nadnerczy z danych pochodzących z publicznej bazy TCGA. Analiza ekspresji genów *ENHO* i *GPR19* na poziomie RNA (qPCR) i białka (immunofluorescencja, Western-blot) w komórkach linii HAC15 wykazała, że jest ona stabilna i nie podlega istotnym statystycznie zmianom wartości po egzogennej stymulacji steroidogenezy hormonem adrenokortykotropowym (ACTH), forskoliną, czy samą adropiną. Wynik ten miałby o wiele większe znaczenie gdyby został zweryfikowany także na mysiej linii Y1 i pierwotnej hodowli komórek nowotworowych nadnerczy (PAC). Przy czym egzogenne podana adropina powoduje istotne statystycznie obniżenie poziomu wydzielanych kluczowych hormonów steroidogenezy (aldosteronu i kortyzolu/kortykosteronu), nie tylko w linii HAC15, ale także w Y1 i PAC, oraz w komórkach HAC15 po ich wcześniejszej stymulacji angiotensyną II i forskoliną. Hamujący wpływ adropiny na steroidogenezę kory nadnerczy występuje poprzez zmniejszenie poziomu ekspresji genów (analizowaną z użyciem qPCR i immunofluorescencji) ograniczających szybkość początkowych etapów biosyntezy steroidów (*StAR* i *CYP11A1*). Transkryptomiczna analiza globalnej ekspresji genów komórek

linii HAC15 po stymulacji za pomocą adropiny, ACTH i forskoliny wykazała zmianę poziomu ekspresji (w odniesieniu do przyjętych punktów odcięcia), odpowiednio: 37, 3 i 197 genów. Stosując analizę wzbogacenia grup genów z użyciem ontologii genowych procesów biologicznych habilitantka wykazała, że adropina umiarkowanie zmienia profil transkryptomiczny komórek HAC15 wywierając znaczący wpływ na geny zaangażowane w ścieżkę sygnalizacyjną TGF-beta. Aby funkcjonalnie zweryfikować wpływ adropiny na steroidogenezę komórek raka nadnerczy (HAC15) poprzez ścieżkę sygnalizacyjną TGF-beta habilitantka zastosowała inhibitor kinazy TβRI potwierdzając przyjęte wcześniej założenie. Następnie badając proliferację komórek HAC15 (cytometrią przepływową i pomiarem proliferacji w czasie rzeczywistym) z zastosowaniem trzech specyficznych inhibitorów kinaz szlaków sygnalizacyjnych ERK1/2, PI3/AKT i TGF-beta wykazała, że adropina stymuluje podziały komórkowe w linii HAC15 poprzez ścieżki ERK1/2 i AKT, ale w sposób niezależny od TGF-beta. Potencjalnie aplikacyjna wartość uzyskanych wyników badań *in vitro* została przez habilitantkę zweryfikowana z wykorzystaniem danych ekspresji genów *ENHO* i *GPR19* (qPCR) w próbkach komórek raka kory nadnerczy uzyskanych po adrenalektomii i normalnych nadnerczy pobranych podczas przeszczepów oraz dostępnych w publicznych bazach (GEPIA, TCGA, NCBI).

Publikacja ta ma największą wartość merytoryczną z publikacji zamieszczonych w cyklu. Opisuje bardzo szeroko przeprowadzone badania, których wyniki opisane w pełnym zakresie pozwoliłyby napisać monografię mogącą stanowić samodzielne osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Opisuje pełen cykl badań dowodzący istotnego, z klinicznego punktu widzenia, wpływu i szlaku oddziaływania adropiny na biologię komórek raka nadnerczy na modelu linii komórkowej HAC15, który został ostatecznie potwierdzony danymi klinicznymi. Przeprowadzone zostały one kompleksowo na ustalonych liniach i pierwotnych kulturach komórkowych łącząc analizę ekspresji wybranych genów (na poziomie RNA i białka) i pełnego transkryptomu, oraz funkcjonalnych badań *in vitro*. Jest ona pierwszym doniesieniem, w którym wykazano bezpośredni wpływ adropiny na regulację steroidogenezy kory nadnerczy poprzez hamowanie ekspresji białka StAR i genu *CYP11A1*. Uzyskane wyniki pozwoliły wykazać istotne znaczenie układu adropina-GPR19 w biologii komórek raka kory nadnerczy. Co pozwoliło wykazać, że zwiększona ekspresja *GPR19* prowadzi do statystycznie istotnego spadku przeżywalności, co sugeruje, że wysoka ekspresja *GPR19* może stanowić negatywny czynnik prognostyczny progresji raka kory nadnerczy.

Publikacja 2 z cyklu jest charakterystyką ciekawego materiału klinicznego z kłopotliwego w identyfikacji przypadku czerniaka, której głównym celem był opis ochronnej roli mitotanu w nowotworze nie pochodzącym z nadnerczy. Aczkolwiek, w zakresie tematyki osiągnięcia naukowego habilitantki, stanowi istotne uzupełniające źródło informacji odnośnie odpowiedzi komórek raka kory nadnerczy (HAC15) na leczenie mitotanem – podstawową substancją zatwierdzoną obecnie do leczenia tego schorzenia. W tym zakresie habilitantka potwierdziła poprzez pomiar impedancji proliferujących komórek, że mitotan podawany w szerokim zakresie stężeń (10-80 μM) hamuje proliferację komórek linii HAC15 w sposób zależny od dawki. Przy czym wyznaczony wskaźnik spadku proliferacji był niewielki i wynosił tylko 16,1%. Mitotan w dawce 50 μM prowadził do nekrozy i zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1 w linii komórkowej, obniżając ~0,64-krotnie potencjał błony mitochondrialnej, zwiększając o 40% pęknięcia dwuniciowe DNA i zwiększając ~1,85-krotnie ekspresję genu *RAD15* (odpowiedzi na uszkodzenia DNA). Komórki linii HAC15 w tych warunkach obumierały głównie poprzez nekrozę (wzrost o 60%), a apoptoza wzrosła jedynie o 16%, jednocześnie stymulując ekspresję 466 genów i obniżając 411 genów. Najsilniej hamował ekspresję genów zaangażowanych w steroidogenezę nadnerczy i podziały komórkowe, natomiast stymulował geny bezpośrednio zaangażowane w procesy związane z działaniem cytostatyków (odpowiedź na stres i apoptozę). W oparciu o dane kliniczne habilitantka wskazała także zestaw genów regulowanych przez mitotan (*CCNA2*, *CDCA3*, *CDCA8*, *PLK1*, *CENPI* i *SGOL1*), których podwyższona ekspresja może być negatywnym czynnikiem prognostycznym progresji raka kory nadnerczy.

Publikacja 3 z cyklu stanowi opis autorskiego protokołu mającego doprowadzić do otrzymania funkcjonalnej linii komórkowej posiadającej cechy komórek nadnerczowych, która w założeniu będzie wykazywała pełną odpowiedź hormonalną, syntezę steroidów

i ekspresję enzymów metabolizujących steroidy. Prace opisane w tym artykule bazują na umiejętnościach jakie habilitantka zdobyła podczas realizacji swojej pracy doktorskiej. W ramach której uzyskała z linii GPCCI001-A (indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych człowieka; hiPSC) komórki o cechach chondrocytów. Realizacja celu w tym artykule, z cyklu habilitacyjnego, miała zostać osiągnięta poprzez różnicowanie tych samych komórek hiPSC z użyciem forskoliny, EGF, IGF, deksometazonu i pożywki kondycjonowanej komórkami HAC15. Ustalony protokół różni się od dotychczas opisanych w literaturze procedur stosujących nadekspresję steroidogennego czynnika-1 (SF-1) z użyciem technik inżynierii genetycznej. Uzyskane komórki zostały scharakteryzowane z wykorzystaniem analizy transkryptomicznej, oraz ekspresji wybranych genów na poziomie mRNA i białka. Testem weryfikującym uzyskanie linii komórkowej posiadającej cechy komórek nadnerczowych była ocena ekspresji genów *StAR*, *CYP11A2* i *CYP11B2* oraz zdolność komórek uzyskanej linii do wydzielania hormonów (aldosteronu i kortyzolu) w odpowiedzi na ACTH. Rezultaty tych analiz nie potwierdziły, że otrzymana linia komórkowa posiada cechy komórek nadnerczy. Analiza transkryptomiczna wykazała, że profil ekspresji genów zróżnicowanych komórek różni się znacząco od niezróżnicowanych i częściowo zróżnicowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych człowieka, wskazując, że zamiast komórek podobnych do kory nadnerczy (pochodzenia mezodermalnego) otrzymano komórki z cechami endodermalnymi. Pomimo, że nie udało się habilitantce powtórzyć wcześniejszego sukcesu artykuł ten stanowi doskonały opis nowatorskich procedur różnicowania pluripotencjalnych komórek czynnikami endo- i egzogennymi, oraz weryfikacji cech uzyskanych komórek poprzez analizę transkryptomiczną.

Podsumowując, cykl trzech artykułów naukowych przedstawionych przez dr n.med. inż. Ewelinę Stelcer pod wspólnym tytułem: „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomiczne” stanowi tematycznie spójne osiągnięcie naukowe. W ramach którego habilitantka zbadała aktywność biologiczną w linii HAC15 (publikacja 1), opisała jej reakcję na działanie mitotanu (publikacja 2) i zaproponowała model różnicowania indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych w komórki o charakterze nadnerczowym (publikacja 3). Uważam, że spełnia ono wymogi stawiane osiągnięciu naukowemu na stopień doktora habilitowanego i stanowi znaczny jej wkład w rozwój dyscypliny nauk medycznych.

Ocena pozostałych prac dorobku naukowo-badawczego

Pierwsze artykuły naukowe współautorstwa pani dr n. med. inż. Eweliny Stelcer (Augustyniak) datowane są na okres zatrudnienia w Pracowni Radiobiologii WCO (Poznań). Są to prace o charakterze przeglądowym o ogólnoswiatowym zasięgu (napisane w języku angielskim). Dotyczą one: najnowszych osiągnięć w dziedzinie bioprzetwarzania komórek macierzystych przy użyciu bioreaktorów (*J Cell Sci Ther* (2014) 5: 172), opisu etapów chondrogenyzy i wpływu różnych czynników wzrostu, które działają w różnych etapach różnicowania komórek macierzystych w chondrocyty (*Int Orthop.* (2015) 39(5): 995-1003), oceny i porównania czterech różnych protokołów różnicowania chondrogenicznego hiPSC w celu zidentyfikowania najbardziej wydajnych i najtańszych metod generowania komórek podobnych do chondrocytów (*Stem Cell Rev Rep.* (2017) 13(2): 299-308), przeglądu aktualnej literatury na temat regeneracji chrząstki stawu kolanowego, łokotek i więzadeł na bazie komórek - badania *in vitro*, *ex vivo* i *in vivo*, a także próby kliniczne (*Int Orthop.* (2016) 40(3):615-624), omówienia aktualnej wiedzy na temat mechanizmów naprawy DNA w komórkach macierzystych w odpowiedzi na szkodliwe działanie czynników genotoksycznych, takich jak promieniowanie jonizujące i chemioterapeutyki (*Exp Ther Med.* (2016) 11(3):695-702), oraz innowacyjnego zastosowania komórek macierzystych w medycynie regeneracyjnej z podsumowaniem metod różnicowania hiPSC do komórek wszystkich trzech listków zarodkowych (*J Lab Diag* (2016) 52(2): 123-136). Wspomniane publikacje przeglądowe pozwoliły habilitantce dogłębnie zapoznać się z wszystkimi dotychczasowymi osiągnięciami w zakresie hodowli, różnicowania i analizy komórek, które z powodzeniem wykorzystwała w dalszej swojej pracy badawczej – zarówno w ramach doktoratu jak i przygotowywanego osiągnięcia habilitacyjnego. Jest to racjonalne i godne pochwały postępowanie, że w trakcie wdrażania się w nową tematykę badawczą pozyskiwana wiedza jest systematyzowana i wykorzystana do napisania prac przeglądowych. Kolejne artykuły naukowe są już pracami opisującymi

wyniki badań eksperymentalnych dotyczących inżynierii tkankowej z wykorzystaniem komórek macierzystych w regeneracji tkanki chrzęstnej. Od uzyskania ludzkiej indukowanej pluripotencjalnej linii komórek macierzystych GPCCi001-A poprzez transfekcję lentiwirusową (Stem Cell Res. (2017) 20:34-37), poznanie w jaki sposób procesy chondrogenne wpływają na profil ekspresji genów komórek chondrocytopodobnych (Mol Med Rep. (2017) 15(5): 2387-2401, 2402-2414; Int J Mol Sci. (2018) 19(2):550; PLoS One. (2018) 13(6):e0198079) i aktywację szlaków rozwojowych (Stem Cell Res. (2018) 30: 53-60), ocenę i modyfikację dostępnych metod różnicowania ludzkich embrionalnych komórek macierzystych w komórki podobne do chondrocytów (Postępy Hig Med Dośw (2017) 71:500-509, 1129-1130), po ich reakcję na promieniowanie jonizujące (PLoS One. (2018) 13(10):e0205691). Po uzyskaniu stopnia doktora dorobek habilitantki poza publikacjami z zakresu chondrocytogenezy (Int J Mol Sci. (2019) 20(18):4371; Sci Rep. (2021) 11(1):7481) poszerza się o aspekty z zakresu onkologii (Front Oncol. (2019) 9: 775; Int J Mol Sci. (2019) 20(21):5412; Cells. (2022) 11(7):1084) w tym nowotworów pochodzenia nadnerczowego (Biomedicines. (2023) 11(4):1233). Jest to istotny dorobek naukowy zarówno w zakresie ilościowym jak i jakości uzyskanych wyników.

Inne formy działalności naukowej, osiągnięcia dydaktyczne, organizacyjne i popularyzujące naukę

Pani dr n.med. inż. Ewelina Stelcer już w okresie studiów wykazywała duże zaangażowanie w aktywność naukową. W czasie studiów drugiego stopnia poza realizacją badań do pracy dyplomowej uczestniczyła w realizacji projektu w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (PO IG 01.01.02-00-074/09) „Biotechnologiczna konwersja glicerolu do polioli i kwasów dikarboksylovych”. Po studiach będąc zatrudnioną w Pracowni Radiobiologii WCO uczestniczyła w realizacji projektu „Wykorzystanie indukowanych komórek pluripotencjalnych (IPS) w regeneracji chrząstki stawowej” (Sonata Bis, 2012/07/E/NZ3/01819, kierownik: dr Wiktoria Suchorowska) i była kierownikiem projektu pt. „Wpływ terapii przeciwnowotworowych na stabilność genetyczną chondrocytów zróżnicowanych z ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych” (Preludium, 2016/23/N/NZ7/01892) w ramach których powstało większość jej dorobku publikacyjnego przed uzyskaniem stopnia doktora i do doktoratu. Dodatkowo była kierownikiem czterech projektów finansowanych przez Dyrektora WCO. Następnie realizując staż podoktorski uczestniczyła w badaniach finansowanych z projektu „Rola adropiny w regulacji funkcji fizjologicznej kory nadnerczy szczura” (Opus 2017/25/B/NZ4/00065, kierownik projektu prof. dr hab. Marcin Ruciński) w ramach którego powstało większość jej dorobku podoktorskiego i osiągnięcia habilitacyjne. Poza publikacjami awansowymi habilitantka jest współautorem 23 prac naukowych, w tym 14 z pierwszym autorstwem. Wygłosiła, łącznie, 3 referaty i zaprezentowała 17 plakatów na konferencjach krajowych i międzynarodowych. O jej rozpoznawalności w środowisku naukowym świadczy powierzenie jej do recenzji artykułów naukowych (6 prac). Łącznie, osiągnięcia te należy uznać za istotną aktywność naukową. Dodatkowo poza działalnością badawczą i związaną z wymianą myśli naukowej pani dr n. med. inż. Ewelina Stelcer realizowała swój plan samokształcenia uczestnicząc w licznych kursach podwyższających kwalifikacje zawodowe organizowanych przez podmioty krajowe i zagraniczne.

Pani dr n.med. inż. Ewelina Stelcer będąc zatrudniona na stanowiskach technicznych, naukowo-technicznych, czy też realizując staż podoktorski nie miała w zakresie swoich formalnych obowiązków zajęć dydaktycznych. Pomimo tego, pełniła funkcję wykładowcy na kursie „Podstawy radiobiologii” dla osób specjalizujących się z dziedziny fizyki medycznej, oraz pełniła rolę opiekuna studentów realizujących staże i praktyki w Pracowni Radiobiologii WCO. Habilitantka wykazywała się też działalnością organizacyjną w zakresie rozwoju Pracowni Radiobiologii, w tym uzyskania przez Wielkopolskie Centrum Onkologii zgody na prowadzenie badań z użyciem mikroorganizmów genetycznie zmodyfikowanych, oraz organizacji w roku 2020 laboratorium diagnostyki COVID19 w obrębie WCO. Była także członkiem międzynarodowego i krajowego towarzystwa naukowego.

Podsumowując ocenę dorobku naukowego dr n. med. inż. Eweliny Stelcer stwierdzam, że jest on liczebnie duży, istotnie powiększony po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, i prezentuje bardzo dobry poziom naukowy, a kandydatka spełnia wymagania ustawowe, w tym wskazany w art. 219, ust. 1 pkt 3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Wniosek końcowy

Podsumowując ocenę monotematycznego cyklu publikacji przedstawionego jako osiągnięcie naukowe pt. „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomiczne” oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego habilitantki stwierdzam, że ma on wysoką wartość naukową i dr n. med. inż. Ewelina Stelcer wniosła istotny wkład w rozwój nauki w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne. Spełnia zatem wymogi zawarte w Ustawie z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023r., poz. 742), dlatego też opiniuję pozytywnie wniosek o nadanie pani dr n. med. inż. Ewelinie Stelcer stopnia doktora habilitowanego.



Dr hab. n. med. Marcin Schmidt, prof. UPP



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 48
60-627 Poznań
tel. +48 61 846 6024
e-mail: marcin.schmidt@up.poznan.pl



WYDZIAŁ NAUK O
ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIU

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

Poznań, 4.04.2024

Recenzja pracy habilitacyjnej pt: „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomyczne” oraz ocena osiągnięć w pracy naukowo-badawczej, dydaktycznej i organizacyjnej dr n. med. inż. Eweliny Stelcer.

Podstawa wykonania recenzji

Recenzja została przygotowana na wniosek Kapituły Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w zakresie uchwały nr 348/2024 z dnia 2 lutego 2024r. w sprawie powołania komisji habilitacyjnej w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr n. med. Ewelinie Stelcer w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne, działającej na podstawie § 33a ust. 7 Statutu Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu oraz § 221 ust. 5 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie i nauce (Dz.U. 2023.742).

Pani dr n. med. inż. Ewelina Stelcer, odwołując się do § 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2021.478 z późn. zm.) wskazała we wniosku z dnia 4 września 2023 r. jako osiągnięcie naukowe będące podstawą do wszczęcia postępowania habilitacyjnego cykl powiązanych tematycznie trzech artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych. Ocena została przygotowana na podstawie dostarczonych mi materiałów zawierających autoreferat i wykaz osiągnięć naukowych pani dr n. med. inż. Eweliny Stelcer, opisujący zakres badań i dorobek naukowy habilitantki z okresu przed i po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, analizę bibliometryczną dorobku naukowego, oświadczenia współautorów wskazujące na ich merytoryczny wkład w powstanie artykułów naukowych zgłoszonych jako osiągnięcie naukowe, wspomniane artykuły naukowe wchodzące w skład cyklu, oraz artykuły naukowe z dorobku habilitantki osiągalne w wolnym dostępie.

Podstawowe dane o kandydatce

Habilitantka uzyskała tytuł magistra inżyniera na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu ukończywszy w 2013 roku studia na kierunku biotechnologia. Zarówno studia pierwszego, jak i drugiego stopnia ukończyła z wynikiem bardzo dobrym (w grupie 5% najlepszych absolwentów). Posiada stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna uzyskany 17 stycznia 2019r. na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, Wydział Lekarski, Centrum Biostruktury na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej pt: „Badanie mechanizmów różnicowania ludzkich, indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych w procesie chondrogenyzy”. Nie posiadam wiedzy czy kandydatka ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora habilitowanego. W latach 2014-2021 pani dr n. med. inż. Ewelina Stelcer pracowała na stanowisku młodszego asystenta w Pracowni Radiobiologii Wielkopolskiego Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Poznaniu. Jednocześnie w latach 2019-2021 uzyskała stanowisko post-doc'a w Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w ramach realizacji projektu pt. „Rola adropiny w regulacji funkcji fizjologicznej kory nadnerczy szczura” (projekt finansowany ze środków NCN – Opus 2017/25/B/NZ4/00065, kierownik projektu prof. dr hab. Marcin Ruciński). Od roku

2021 do chwili obecnej zajmuje stanowisko starszego specjalisty naukowo-technicznego w Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Swoje kwalifikacje zawodowe dodatkowo rozszerzyła ukończywszy w 2015r. kurs dla osób planujących, wykonujących doświadczenia na zwierzętach, uśmiercających oraz dla osób sprawujących opiekę nad zwierzętami przeprowadzony przez Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych uzyskując certyfikat nr 1770/2015.

Informacja o obowiązujących przepisach prawa i kryteriach oceny

Postępowanie o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr n.med. inż. Ewelinie Stelcer w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne zostało wszczęte w dniu 15 września 2023r., co oznacza, że jest ono procedowane wyłącznie w oparciu o przepisy zawarte w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020r. poz. 85, 374, 695, 875, 1086, z 2021r. poz. 159). Uważam, że dr n.med. inż. Ewelina Stelcer spełnia warunki formalne do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zawarte w art. 219 wspomnianej ustawy. Posiada stopień doktora (1) udokumentowany załączonym do dokumentów skanem dyplomu (załącznik nr 4 do wniosku). Posiada w dorobku osiągnięcia naukowe, stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauk medycznych (2) przedstawiony w wykazie osiągnięć naukowych (załącznik nr 2 do wniosku). W tym, cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych przedstawiony do oceny jako osiągnięcie naukowe pt: „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomyczne” omówione w auto-referacie (załącznik nr 1 do wniosku), oraz wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni (Warszawski Uniwersytet Medyczny, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu) i instytucji naukowej (Wielkopolskie Centrum Onkologii) (3) co dokumentują artykuły naukowe z dorobku habilitantki.

Dane naukometryczne i liczba publikacji

Pani dr n. med. inż. Ewelina Stelcer posiada łączny dorobek naukowy w postaci 26 artykułów naukowych o łącznym wskaźniku oddziaływania (IF): 77,266, wskaźniku MNiSW: 1485 punktów, liczbie cytowań: 279, oraz Indeks Hirscha w wysokości 9. W 14 pracach jest pierwszym autorem, a 19 to oryginalne prace twórcze. Na dorobek habilitantki, przed uzyskaniem stopnia doktora, składa się 17 prac o sumarycznym wskaźniku IF w wysokości 30,104 (MNiSW: 315 punktów), natomiast po uzyskaniu ostatniego awansu naukowego: 9 prac o sumarycznym wskaźniku IF w wysokości 47,162 (MNiSW: 1170 punktów; zmieniona punktacja czasopism). Pomimo niższej liczby prac powstałych po uzyskaniu stopnia doktora ich wskaźnik oddziaływania został, więcej niż, podwojony co przemawia za ich „większym” wkładem w rozwój dyscypliny nauki medyczne potwierdzając znaczący rozwój naukowy habilitantki od tego momentu. Jednocześnie trzeba podkreślić, że czasopisma naukowe w których te prace się ukazywały, w większości, plasują się w pierwszym kwartylu (Q1) rankingu JCR. Należy także jednoznacznie przyznać, że cały dorobek naukowy habilitantki jest ściśle związany z wiodącą tematyką badawczą realizowaną w jej miejscach pracy i w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Ocena cyklu tematycznie powiązanych artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe

Przedstawiony do oceny cykl tematycznie powiązanych artykułów naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe pod wspólnym tytułem: „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomyczne” składa się z trzech artykułów naukowych, zgodnych z definicją zawartą w § 9 rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 22 lutego 2019 r. w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej (Dz.U. 2022, poz. 661). Są to: Publikacja 1 - Stelcer, E., Milecka, P., Komarowska, H., Jopek, K., Tyczewska, M., Szyszka, M., Lesniczak, M., Suchorska, W., Bekova, K., Szczepaniak, B., Ruchala, M., Karczewski, M., Wierzbicki, T., Szaflarski, W., Malendowicz, L. K., & Rucinski, M. (2020). Adropin Stimulates Proliferation and Inhibits Adrenocortical Steroidogenesis in the Human Adrenal Carcinoma (HAC15) Cell Line. *Frontiers in endocrinology*, 11, 561370. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.561370>,

Publikacja 2 - Stelcer, E., Komarowska, H., Jopek, K., Żok, A., Iżycki, D., Malińska, A., Szczepaniak, B., Komekbaï, Z., Karczewski, M., Wierzbicki, T., Suchorska, W. M., Ruchała, M., & Ruciński, M. (2022). Biological response of adrenal carcinoma and melanoma cells to mitotane treatment. *Oncology letters*, 23(4), 120. <https://doi.org/10.3892/ol.2022.13240>,

Publikacja 3 - Stelcer, E., Jopek, K., Błatkiewicz, M., Olechnowicz, A., Kamiński, K., Szyszka, M., Suchorska, W. M., & Ruciński, M. (2023). Gene expression profile of hiPSC-derived cells differentiated with growth factors, forskolin and conditioned medium from human adrenocortical cell line. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 10.17219/acem/168603. Advance online publication. <https://doi.org/10.17219/acem/168603>.

We wszystkich tych artykułach naukowych habilitantka odpowiedzialna była za współtworzenie koncepcji badań, przeprowadzenie badań *in vitro*, analizę i interpretację otrzymanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu. Pomysł i koncepcja badań, oraz analiza i interpretacja wyników wraz z przygotowaniem manuskryptu, są w mojej ocenie najistotniejszym aspektem prowadzenia badań naukowych. Stąd należy uznać rolę dr n. med. inż. Eweliny Stelecer jako wiodącą w powstaniu tych prac. Dodatkowo załączone oświadczenia współautorów potwierdzają jej wiodącą rolę w ich powstaniu. Należy zauważyć, że dr n.med. inż. Ewelina Stelcer jest w tych artykułach pierwszym i korespondencyjnym autorem. Bardzo rozbudowany zakres badawczy i metodyczny w pełni uzasadnia podjętą szeroką współpracę, której rezultatem są przedstawione do oceny wieloautorskie artykuły naukowe. Otwartość i umiejętność pracy w zespole, szczególnie z ekspertami z różnych dziedzin, jest niezmiernie cenna i konieczna do realizacji badań na wysokim poziomie naukowym. Artykuły naukowe wchodzące w skład cyklu posiadają łączną wartość wskaźnika Impact Factor w wysokości 10,555, łączną wartość wskaźnika MNiSW: 310 punktów i liczbę cytowań wg WoS: 16.

Dr n. med. inż. Ewelina Stelcer nie sformułowała jednoznacznie, w przedstawionym do oceny autoreferacie, nadrzędnej hipotezy badawczej i celu swojego osiągnięcia naukowego. Aczkolwiek, we wprowadzeniu wskazuje założenie (hipotezę), że linia komórkowa HAC15 będąc najbardziej wrażliwą na stymulację wszystkimi głównymi sekretagogami nadnerczy, takimi jak angiotensyna II, K⁺, kortykotropina (ACTH) i forskolina, które prowadzą do stymulacji biosyntezy hormonów nadnerczy stanowi najlepszy model w badaniach *in vitro* nad normalną funkcją komórek nadnerczy lub raka kory nadnerczy. Natomiast nadrzędnym celem jej osiągnięcia naukowego była charakterystyka biologii linii HAC15, w szczególności w kontekście odpowiedzi na stymulację hormonami. Cel ten zrealizowała i opisała w cyklu 3 artykułów naukowych.

W publikacji 1 zakładając, że adropina - obok adiponektyny, oreksyny, leptyny lub neuromedyny U - stanowi peptyd wpływający na aktywność kory nadnerczy habilitantka zbadała wpływ adropiny na podstawową (proliferacja) i wysoce specyficzną (steroidogeneza) aktywność biologiczną w linii HAC15. Dodatkowo przy użyciu specyficznych inhibitorów i mikromacierzowej analizy transkryptomicznej określiła wewnątrzkomórkowy mechanizm molekularny interakcji adropina-receptor GPR19. Kliniczne znaczenie uzyskanych wyników zweryfikowała poprzez bioinformatyczną analizę ekspresji genów kodujących adropinę (*ENHO*) i jej receptor (*GPR19*) w ludzkich prawidłowych nadnerczach w odniesieniu do raka kory nadnerczy z danych pochodzących z publicznej bazy TCGA. Analiza ekspresji genów *ENHO* i *GPR19* na poziomie RNA (qPCR) i białka (immunofluorescencja, Western-blot) w komórkach linii HAC15 wykazała, że jest ona stabilna i nie podlega istotnym statystycznie zmianom wartości po egzogennej stymulacji steroidogenezy hormonem adrenokortykotropowym (ACTH), forskoliną, czy samą adropiną. Wynik ten miałby o wiele większe znaczenie gdyby został zweryfikowany także na mysiej linii Y1 i pierwotnej hodowli komórek nowotworowych nadnerczy (PAC). Przy czym egzogenne podana adropina powoduje istotne statystycznie obniżenie poziomu wydzielanych kluczowych hormonów steroidogenezy (aldosteronu i kortyzolu/kortykosteronu), nie tylko w linii HAC15, ale także w Y1 i PAC, oraz w komórkach HAC15 po ich wcześniejszej stymulacji angiotensyną II i forskoliną. Hamujący wpływ adropiny na steroidogenezę kory nadnerczy występuje poprzez zmniejszenie poziomu ekspresji genów (analizowaną z użyciem qPCR i immunofluorescencji) ograniczających szybkość początkowych etapów biosyntezy steroidów (*StAR* i *CYP11A1*). Transkryptomiczna analiza globalnej ekspresji genów komórek

linii HAC15 po stymulacji za pomocą adropiny, ACTH i forskoliny wykazała zmianę poziomu ekspresji (w odniesieniu do przyjętych punktów odcięcia), odpowiednio: 37, 3 i 197 genów. Stosując analizę wzbogacenia grup genów z użyciem ontologii genowych procesów biologicznych habilitantka wykazała, że adropina umiarkowanie zmienia profil transkryptomyczny komórek HAC15 wywierając znaczący wpływ na geny zaangażowane w ścieżkę sygnalizacyjną TGF-beta. Aby funkcjonalnie zweryfikować wpływ adropiny na steroidogenezę komórek raka nadnerczy (HAC15) poprzez ścieżkę sygnalizacyjną TGF-beta habilitantka zastosowała inhibitor kinazy TβRI potwierdzając przyjęte wcześniej założenie. Następnie badając proliferację komórek HAC15 (cytometrią przepływową i pomiarem proliferacji w czasie rzeczywistym) z zastosowaniem trzech specyficznych inhibitorów kinaz szlaków sygnalizacyjnych ERK1/2, PI3/AKT i TGF-beta wykazała, że adropina stymuluje podziały komórkowe w linii HAC15 poprzez ścieżki ERK1/2 i AKT, ale w sposób niezależny od TGF-beta. Potencjalnie aplikacyjna wartość uzyskanych wyników badań *in vitro* została przez habilitantkę zweryfikowana z wykorzystaniem danych ekspresji genów *ENHO* i *GPR19* (qPCR) w próbkach komórek raka kory nadnerczy uzyskanych po adrenalektomii i normalnych nadnerczy pobranych podczas przeszczepów oraz dostępnych w publicznych bazach (GEPIA, TCGA, NCBI).

Publikacja ta ma największą wartość merytoryczną z publikacji zamieszczonych w cyklu. Opisuje bardzo szeroko przeprowadzone badania, których wyniki opisane w pełnym zakresie pozwoliłyby napisać monografię mogącą stanowić samodzielne osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Opisuje pełen cykl badań dowodzący istotnego, z klinicznego punktu widzenia, wpływu i szlaku oddziaływania adropiny na biologię komórek raka nadnerczy na modelu linii komórkowej HAC15, który został ostatecznie potwierdzony danymi klinicznymi. Przeprowadzone zostały one kompleksowo na ustalonych liniach i pierwotnych kulturach komórkowych łącząc analizę ekspresji wybranych genów (na poziomie RNA i białka) i pełnego transkryptomu, oraz funkcjonalnych badań *in vitro*. Jest ona pierwszym doniesieniem, w którym wykazano bezpośredni wpływ adropiny na regulację steroidogenezy kory nadnerczy poprzez hamowanie ekspresji białka StAR i genu *CYP11A1*. Uzyskane wyniki pozwoliły wykazać istotne znaczenie układu adropina-GPR19 w biologii komórek raka kory nadnerczy. Co pozwoliło wykazać, że zwiększona ekspresja *GPR19* prowadzi do statystycznie istotnego spadku przeżywalności, co sugeruje, że wysoka ekspresja *GPR19* może stanowić negatywny czynnik prognostyczny progresji raka kory nadnerczy.

Publikacja 2 z cyklu jest charakterystyką ciekawego materiału klinicznego z kłopotliwego w identyfikacji przypadku czerniaka, której głównym celem był opis ochronnej roli mitotanu w nowotworze nie pochodzącym z nadnerczy. Aczkolwiek, w zakresie tematyki osiągnięcia naukowego habilitantki, stanowi istotne uzupełniające źródło informacji odnośnie odpowiedzi komórek raka kory nadnerczy (HAC15) na leczenie mitotanem – podstawową substancją zatwierdzoną obecnie do leczenia tego schorzenia. W tym zakresie habilitantka potwierdziła poprzez pomiar impedancji proliferujących komórek, że mitotan podawany w szerokim zakresie stężeń (10-80 μM) hamuje proliferację komórek linii HAC15 w sposób zależny od dawki. Przy czym wyznaczony wskaźnik spadku proliferacji był niewielki i wynosił tylko 16,1%. Mitotan w dawce 50 μM prowadził do nekrozy i zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1 w linii komórkowej, obniżając ~0,64-krotnie potencjał błony mitochondrialnej, zwiększając o 40% pęknięcia dwuniciowe DNA i zwiększając ~1,85-krotnie ekspresję genu *RAD15* (odpowiedzi na uszkodzenia DNA). Komórki linii HAC15 w tych warunkach obumierały głównie poprzez nekrozę (wzrost o 60%), a apoptoza wzrosła jedynie o 16%, jednocześnie stymulując ekspresję 466 genów i obniżając 411 genów. Najsilniej hamował ekspresję genów zaangażowanych w steroidogenezę nadnerczy i podziały komórkowe, natomiast stymulował geny bezpośrednio zaangażowane w procesy związane z działaniem cytostatyków (odpowiedź na stres i apoptozę). W oparciu o dane kliniczne habilitantka wskazała także zestaw genów regulowanych przez mitotan (*CCNA2*, *CDCA3*, *CDCA8*, *PLK1*, *CENPI* i *SGOL1*), których podwyższona ekspresja może być negatywnym czynnikiem prognostycznym progresji raka kory nadnerczy.

Publikacja 3 z cyklu stanowi opis autorskiego protokołu mającego doprowadzić do otrzymania funkcjonalnej linii komórkowej posiadającej cechy komórek nadnerczowych, która w założeniu będzie wykazywała pełną odpowiedź hormonalną, syntezę steroidów

i ekspresję enzymów metabolizujących steroidy. Prace opisane w tym artykule bazują na umiejętnościach jakie habilitantka zdobyła podczas realizacji swojej pracy doktorskiej. W ramach której uzyskała z linii GPCCi001-A (indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych człowieka; hiPSC) komórki o cechach chondrocytów. Realizacja celu w tym artykule, z cyklu habilitacyjnego, miała zostać osiągnięta poprzez różnicowanie tych samych komórek hiPSC z użyciem forskoliny, EGF, IGF, deksometazonu i pożywki kondycjonowanej komórkami HAC15. Ustalony protokół różni się od dotychczas opisanych w literaturze procedur stosujących nadekspresję steroidogennego czynnika-1 (SF-1) z użyciem technik inżynierii genetycznej. Uzyskane komórki zostały scharakteryzowane z wykorzystaniem analizy transkryptomicznej, oraz ekspresji wybranych genów na poziomie mRNA i białka. Testem weryfikującym uzyskanie linii komórkowej posiadającej cechy komórek nadnerczowych była ocena ekspresji genów *StAR*, *CYP11A2* i *CYP11B2* oraz zdolność komórek uzyskanej linii do wydzielania hormonów (aldosteronu i kortyzolu) w odpowiedzi na ACTH. Rezultaty tych analiz nie potwierdziły, że otrzymana linia komórkowa posiada cechy komórek nadnerczy. Analiza transkryptomiczna wykazała, że profil ekspresji genów zróżnicowanych komórek różni się znacząco od niezróżnicowanych i częściowo zróżnicowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych człowieka, wskazując, że zamiast komórek podobnych do kory nadnerczy (pochodzenia mezodermalnego) otrzymano komórki z cechami endodermalnymi. Pomimo, że nie udało się habilitantce powtórzyć wcześniejszego sukcesu artykuł ten stanowi doskonały opis nowatorskich procedur różnicowania pluripotencjalnych komórek czynnikami endo- i egzogennymi, oraz weryfikacji cech uzyskanych komórek poprzez analizę transkryptomiczną.

Podsumowując, cykl trzech artykułów naukowych przedstawionych przez dr n.med. inż. Ewelinę Stelcer pod wspólnym tytułem: „Wybrane aspekty molekularne raka kory nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomiczne” stanowi tematycznie spójne osiągnięcie naukowe. W ramach którego habilitantka zbadała aktywność biologiczną w linii HAC15 (publikacja 1), opisała jej reakcję na działanie mitotanu (publikacja 2) i zaproponowała model różnicowania indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych w komórki o charakterze nadnerczowym (publikacja 3). Uważam, że spełnia ono wymogi stawiane osiągnięciu naukowemu na stopień doktora habilitowanego i stanowi znaczny jej wkład w rozwój dyscypliny nauk medycznych.

Ocena pozostałych prac dorobku naukowo-badawczego

Pierwsze artykuły naukowe współautorstwa pani dr n. med. inż. Eweliny Stelcer (Augustyniak) datowane są na okres zatrudnienia w Pracowni Radiobiologii WCO (Poznań). Są to prace o charakterze przeglądowym o ogólnosięciowym zasięgu (napisane w języku angielskim). Dotyczą one: najnowszych osiągnięć w dziedzinie bioprzetwarzania komórek macierzystych przy użyciu bioreaktorów (*J Cell Sci Ther* (2014) 5: 172), opisu etapów chondrogenyzy i wpływu różnych czynników wzrostu, które działają różnymi etapami różnicowania komórek macierzystych w chondrocyty (*Int Orthop.* (2015) 39(5): 995-1003), oceny i porównania czterech różnych protokołów różnicowania chondrogenicznego hiPSC w celu zidentyfikowania najbardziej wydajnych i najtańszych metod generowania komórek podobnych do chondrocytów (*Stem Cell Rev Rep.* (2017) 13(2): 299-308), przeglądu aktualnej literatury na temat regeneracji chrząstki stawu kolannowego, łąkotek i więzadeł na bazie komórek - badania *in vitro*, *ex vivo* i *in vivo*, a także próby kliniczne (*Int Orthop.* (2016) 40(3):615-624), omówienia aktualnej wiedzy na temat mechanizmów naprawy DNA w komórkach macierzystych w odpowiedzi na szkodliwe działanie czynników genotoksycznych, takich jak promieniowanie jonizujące i chemioterapeutyki (*Exp Ther Med.* (2016) 11(3):695-702), oraz innowacyjnego zastosowania komórek macierzystych w medycynie regeneracyjnej z podsumowaniem metod różnicowania hiPSC do komórek wszystkich trzech listków zarodkowych (*J Lab Diag* (2016) 52(2): 123-136). Wspomniane publikacje przeglądowe pozwoliły habilitantce dogłębnie zapoznać się z wszystkimi dotychczasowymi osiągnięciami w zakresie hodowli, różnicowania i analizy komórek, które z powodzeniem wykorzystywała w dalszej swojej pracy badawczej – zarówno w ramach doktoratu jak i przygotowywanego osiągnięcia habilitacyjnego. Jest to racjonalne i godne pochwały postępowanie, że w trakcie wdrażania się w nową tematykę badawczą pozyskiwana wiedza jest systematyzowana i wykorzystana do napisania prac przeglądowych. Kolejne artykuły naukowe są już pracami opisującymi

wyniki badań eksperymentalnych dotyczących inżynierii tkankowej z wykorzystaniem komórek macierzystych w regeneracji tkanki chrzęstnej. Od uzyskania ludzkiej indukowanej pluripotencjalnej linii komórek macierzystych GPCCi001-A poprzez transfekcję lentiwirusową (Stem Cell Res. (2017) 20:34-37), poznanie w jaki sposób procesy chondrogenne wpływają na profil ekspresji genów komórek chondrocytopodobnych (Mol Med Rep. (2017) 15(5): 2387-2401, 2402-2414; Int J Mol Sci. (2018) 19(2):550; PLoS One. (2018) 13(6):e0198079) i aktywację szlaków rozwojowych (Stem Cell Res. (2018) 30: 53-60), ocenę i modyfikację dostępnych metod różnicowania ludzkich embrionalnych komórek macierzystych w komórki podobne do chondrocytów (Postępy Hig Med Dośw (2017) 71:500-509, 1129-1130), po ich reakcję na promieniowanie jonizujące (PLoS One. (2018) 13(10):e0205691). Po uzyskaniu stopnia doktora dorobek habilitantki poza publikacjami z zakresu chondrocytogenezy (Int J Mol Sci. (2019) 20(18):4371; Sci Rep. (2021) 11(1):7481) poszerza się o aspekty z zakresu onkologii (Front Oncol. (2019) 9: 775; Int J Mol Sci. (2019) 20(21):5412; Cells. (2022) 11(7):1084) w tym nowotworów pochodzenia nadnerczowego (Biomedicines. (2023) 11(4):1233). Jest to istotny dorobek naukowy zarówno w zakresie ilościowym jak i jakości uzyskanych wyników.

Inne formy działalności naukowej, osiągnięcia dydaktyczne, organizacyjne i popularyzujące naukę

Pani dr n.med. inż. Ewelina Stelcer już w okresie studiów wykazywała duże zaangażowanie w aktywność naukową. W czasie studiów drugiego stopnia poza realizacją badań do pracy dyplomowej uczestniczyła w realizacji projektu w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (PO IG 01.01.02-00-074/09) „Biotchnologiczna konwersja glicerolu do polioli i kwasów dikarboksylowych”. Po studiach będąc zatrudnioną w Pracowni Radiobiologii WCO uczestniczyła w realizacji projektu „Wykorzystanie indukowanych komórek pluripotencjalnych (IPS) w regeneracji chrząstki stawowej” (Sonata Bis, 2012/07/E/NZ3/01819, kierownik: dr Wiktoria Suchorowska) i była kierownikiem projektu pt. „Wpływ terapii przeciwnowotworowych na stabilność genetyczną chondrocytów zróżnicowanych z ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych” (Preludium, 2016/23/N/NZ7/01892) w ramach których powstało większość jej dorobku publikacyjnego przed uzyskaniem stopnia doktora i do doktoratu. Dodatkowo była kierownikiem czterech projektów finansowanych przez Dyrektora WCO. Następnie realizując staż podoktorski uczestniczyła w badaniach finansowanych z projektu „Rola adropiny w regulacji funkcji fizjologicznej kory nadnerczy szczura” (Opus 2017/25/B/NZ4/00065, kierownik projektu prof. dr hab. Marcin Ruciński) w ramach którego powstało większość jej dorobku podoktorskiego i osiągnięcia habilitacyjne. Poza publikacjami awansowymi habilitantka jest współautorem 23 prac naukowych, w tym 14 z pierwszym autorstwem. Wygłosiła, łącznie, 3 referaty i zaprezentowała 17 plakatów na konferencjach krajowych i międzynarodowych. O jej rozpoznawalności w środowisku naukowym świadczy powierzenie jej do recenzji artykułów naukowych (6 prac). Łącznie, osiągnięcia te należy uznać za istotną aktywność naukową. Dodatkowo poza działalnością badawczą i związaną z wymianą myśli naukowej pani dr n. med. inż. Ewelina Stelcer realizowała swój plan samokształcenia uczestnicząc w licznych kursach podwyższających kwalifikacje zawodowe organizowanych przez podmioty krajowe i zagraniczne.

Pani dr n.med. inż. Ewelina Stelcer będąc zatrudniona na stanowiskach technicznych, naukowo-technicznych, czy też realizując staż podoktorski nie miała w zakresie swoich formalnych obowiązków zajęć dydaktycznych. Pomimo tego, pełniła funkcję wykładowcy na kursie „Podstawy radiobiologii” dla osób specjalizujących się z dziedziny fizyki medycznej, oraz pełniła rolę opiekuna studentów realizujących staże i praktyki w Pracowni Radiobiologii WCO. Habilitantka wykazywała się też działalnością organizacyjną w zakresie rozwoju Pracowni Radiobiologii, w tym uzyskania przez Wielkopolskie Centrum Onkologii zgody na prowadzenie badań z użyciem mikroorganizmów genetycznie zmodyfikowanych, oraz organizacji w roku 2020 laboratorium diagnostyki COVID19 w obrębie WCO. Była także członkiem międzynarodowego i krajowego towarzystwa naukowego.

Podsumowując ocenę dorobku naukowego dr n. med. inż. Eweliny Stelcer stwierdzam, że jest on liczebnie duży, istotnie powiększony po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, i prezentuje bardzo dobry poziom naukowy, a kandydatka spełnia wymagania ustawowe, w tym wskazany w art. 219, ust. 1 pkt 3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Wniosek końcowy

Podsumowując ocenę monotematycznego cyklu publikacji przedstawionego jako osiągnięcie naukowe pt. „Wybrane aspekty molekularne raka skóry nadnerczy w oparciu o hodowlę komórek nowotworowych *in vitro* i przeprowadzone badania transkryptomyczne” oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego habilitantki stwierdzam, że ma on wysoką wartość naukową i dr n. med. inż. Ewelina Stelcer wniosła istotny wkład w rozwój nauki w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne. Spełnia zatem wymogi zawarte w Ustawie z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023r., poz. 742), dlatego też opiniuję pozytywnie wniosek o nadanie pani dr n. med. inż. Ewelinie Stelcer stopnia doktora habilitowanego.



Dr hab. n. med. Marcin Schmidt, prof. UPP

