

Prof. dr hab. Roman Lechowski
Katedra Chorób Małych Zwierząt i Klinika
SGGW w Warszawie

Warszawa, 18.07.2023 r.

Opinia
o dorobku naukowym i ocena osiągnięcia naukowego
doktor nauk rolniczych
Agaty Mikołajczyk-Martinez
„Eksperymentalne terapie nowotworów otrzewnej na modelach komórkowych oraz
modelu zwierzęcym świni domowej (*Sus scrofa domestica*)”

1. Charakterystyka Kandydatki

Dr Agata Mikołajczyk-Martinez ukończyła studia w 2012 roku uzyskując tytuł lekarza weterynarii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. W 2022 uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie weterynaria na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, za rozprawę doktorską: „Rola fimbrii typu 1 w adhezji i inwazji oraz przeżywalności i cytotoksyczności pałeczek *Salmonella Gallinarum* i *Salmonella Enteritidis* wobec kurzych linii komórkowych”.

W latach 2014– 2022 była zatrudniona jako asystent w Katedrze Biochemii i Biologii Molekularnej a następnie do chwili obecnej jako adiunkt w Katedrze Chemii Biologicznej i Bioobrazowania, Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, a także od 01.09.2022 – do chwili obecnej – jako adiunkt w Katedrze Biochemii i Biologii Molekularnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (aktualnie przebywa na urlopie naukowym).

Kandydatka nie ubiegała się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. Niniejsze postępowanie odbywa się pierwszy raz.

Ocenę sporządzono w oparciu o rozporządzenie Ministra NiSW z dn. 26.09.2016 w sprawie kryteriów oceny osoby ubiegającej się o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w związku z art. 179 ustawy z dn. 3.07.2018 (przepisy wprowadzające ustawę „Prawo o szkolnictwie wyższym”, Dz.U z 3.07 poz. 1669).

Podsumowanie osiągnięć naukowych Kandydatki zostało ocenione w zakresie merytorycznym na podstawie art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2023, poz. 742).

Ocena osiągnięć naukowych

Osiągnięcie naukowe stanowi jednotematyczny cykl publikacji pod wspólnym tytułem: „Eksperymentalne terapie nowotworów otrzewnej na modelach komórkowych oraz modelu zwierzęcym świni domowej (*Sus scrofa domestica*)” Cykl obejmuje 4 oryginalne prace opublikowane w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR), których sumaryczny IF wynosi 12,968 a łączna liczba punktów Ministerstwa Edukacji i Nauki to 240. W skład cyklu wchodzi:

1. Mikołajczyk, A.; Khosrawipour, V.; Schubert, J.; Grzesiak, J.; Chaudhry, H.; Khosrawipour, T. Effect of Liposomal Doxorubicin in Pressurized Intra-Peritoneal Aerosol Chemotherapy (PIPAC). *Journal of Cancer* 2018, 9, 5. doi: 10.7150/jca.26860 (IF=3,182; 30 pkt. MNiSW)
2. Mikołajczyk, A.; Khosrawipour, T.; Kulas, J.; Migdal, P.; Arafkas, M.; Nicpon, J.; Khosrawipour, V. The Structural Effect of High Intensity Ultrasound on Peritoneal Tissue: A Potential Vehicle for Targeting Peritoneal Metastases. *BMC Cancer* 2020, 20, 481, doi:10.1186/s12885-020-06981-4. (IF=4,430; 100pkt. MNiSW)
3. Mikołajczyk, A.; Khosrawipour, V.; Lau, H.; Li, S.; Migdal, P.; Labbé, M.K.; Kielan, W.; Nicpon, J.; Stieglitz, S.; Khosrawipour, T. Exploring the Potential of Taurolidine in Inducing Mobilization and Detachment of Colon Cancer Cells: A Preliminary in-Vitro Study. *BMC Pharmacol Toxicol* 2022, 23, 38, doi:10.1186/s40360-022-00572-8. (IF=2,605; 70pkt. MEiN)
4. Thelen, S.; Mikołajczyk-Martinez, A.; Diakun, A.; Khosrawipour, T.; Zielinski, K.; Nicpoń, J.; Kielbowicz, Z.; Prządka, P.; Liszka, B.; Kuroпка, P.; Li, S.; Lau, H.; Kielan,

W.; Khosrawipour, V. Evaluating the Concept of Gas-based Intraperitoneal Hyperthermia beyond 43°C in the Treatment of Peritoneal Metastasis: A Pilot Study. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2022, 24 (6), 1–9. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11687>. (IF=2,75; 40pkt. MEiN)

W pierwszej pracy wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego „Eksperymentalne terapie nowotworów otrzewnej na modelach komórkowych oraz modelu zwierzęcym świni domowej (*Sus scrofa domestica*)” Autorka wskazuje, że liposomalna doksorubicyna zachowuje swoją integralność w trakcie przeprowadzania procedury PIPAC, a także, że wnikanie doksorubicyny zamkniętej w kapsułach liposomalnych w głąb tkanki otrzewnej jest bardzo ograniczone. Biorąc pod uwagę ograniczone działanie chemioterapeutyków drobnocząsteczkowych w jamie brzusznej, ze względu na ich szybkie wchłanianie do krwiobiegu, informacja o braku dezintegracji LD, sugeruje możliwość jej użycia w postaci zdeponowanej, z dalszą możliwością ich uwolnienia przy użyciu np. ultradźwięków, bądź innych czynników fizycznych. Ponadto, ograniczenie penetracji LD może nieść za sobą korzyści w postaci mniejszej cytotoksyczności wobec tkanek prawidłowych, a uwalnianie może następować w sposób kontrolowany, w miejscach zmienionych nowotworowo.

W drugiej publikacji celem była analiza zmian w strukturze otrzewnej po zastosowaniu ultradźwięków, które mogą ułatwić wnikanie chemioterapeutyków w głąb otrzewnej, w trakcie stosowania chemioterapii bezpośredniej. W badaniu posłużono się modelem *ex-vivo*, w którym wykorzystano świeżą tkankę otrzewnej świni. Kolejno do próbki przyłożono w bardzo bliskiej odległości (około 3 mm), końcówkę sonikatora, przez którą zastosowano ultradźwięki o mocy 70 W i częstotliwości 20kHz. W zależności od grupy badanej, wiązka ultradźwięków była przykładana na czas: 30, 60, 120 bądź 300 sekund. Grupa kontrolna nie otrzymała wiązki ultradźwięków. Kolejno przeprowadzono analizę przy użyciu mikroskopu świetlnego, mikroskopu fluorescencyjnego, z barwieniem jąder roztworem 1,5 µg/ml 4',6-diamidyno-2-fenyloindolu (DAPI) oraz kriogenicznego skaningowego mikroskopu elektronowego (cryoSEM). Analiza przy użyciu mikroskopu świetlnego, wykazała, że w porównaniu do grupy kontrolnej, grupa, która otrzymała wiązkę ultradźwięków wykazywała zmianę powierzchni otrzewnej w postaci powstania białej błony o zmienionej konsystencji. Analiza przy użyciu mikroskopu elektronowego wykazała dezintegrację struktury otrzewnej, z rozdzielonymi wiązkami, natomiast próba kontrolna charakteryzowała się gładką, nienaruszoną, zwartą strukturą. Obrazowanie przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego wykazało, że stopeń

rozwarstwienia tkanki zależne jest od czasu działania wiązki ultradźwiękowej oraz, że różne zmiany obserwowane są w zależności od warstwy otrzewnej. Głębokość dezintegracji struktur zależy od czasu działania ultradźwięków i przy 30 sekundach sięga około 500 μm i wzrasta w momencie wydłużenia czasu działania wiązki HIUS, przy 300 sekundach zmiany sięgają około 800 μm

Uzyskane wyniki sugerują, że HIUS może stanowić znaczące ulepszenie w leczeniu nowotworów otrzewnej. Przedstawione badania dają pierwszy wgląd w mikroskopowe zmiany w strukturze otrzewnej, przy zastosowaniu HIUS. Autorka udowodniła, że obserwowane zmiany opisane w powyżej pracy mają bezpośrednie przełożenie na głębokość penetracji doksorubicyny, zarówno wodnego jej roztworu jak i doksorubicyny liposomalnej, zwiększając znacząco wnikanie do tkanek traktowanych wcześniej ultradźwiękami o wysokim natężeniu.

W publikacji 3 celem pracy była analiza wpływu taurolidyny na morfologię, mobilizację i potencjał przerzutowania linii komórek ludzkiego raka jelita grubego – HT-29. Komórki ludzkiego nowotworu jelita grubego linii HT-29 traktowano różnymi stężeniami roztworu taurolidyny

Analiza żywotności wykazała, że w dołkach płytki z hodowli początkowej po wytrząsaniu, wraz ze wzrostem stężenia taurolidyny zmniejsza się istotnie statystycznie żywotność komórek, przy najmniejszej żywotności dla kontroli pozytywnej traktowanej oksaliplatyną.

Autorka wykazała, że komórki traktowane taurolidyną zmieniają kształt oraz interakcje międzykomórkowe oraz względem podłoża. Ponadto wraz ze wzrostem stężenia roztworu taurolidyny, komórki mają większą tendencję do odrywania się od pierwotnej hodowli komórkowej i jednocześnie oderwane komórki mają możliwość ponownego przylegania do podłoża i proliferacji. Istotną informacją w kontekście leczenia przeciwnowotworowego z wykorzystaniem taurolidyny jest to, że przy określonym stężeniu, tj. 0,06%-0,09%, taurolidyna nie jest na tyle cytotoksyczna aby skutecznie zabić komórki, ale jest to wystarczające stężenie do mobilizacji komórek z hodowli pierwotnej (potencjalnie ogniska pierwotnego nowotworu), które to komórki mogą zostać przetransportowane w inne miejsce, z możliwością wtórnej adhezji i proliferacji. Powyższa praca niesie ze sobą niezwykle istotne informacje, które muszą być brane pod uwagę przy decyzji o stosowaniu taurolidyny w leczeniu przeciwnowotworowym.

W publikacji 4 celem badań było sprawdzenie możliwości zastosowania hipertermii gazowej powyżej 43°C, jako potencjalnej metody leczenia nowotworów otrzewnej. Eksperyment

obejmował część in vitro, ex vivo oraz in vivo. Przedstawione badania dają pierwszy wgląd w możliwość zastosowania klinicznego hipertermii gazowej w postaci wtłaczania ogrzanego powietrza do jamy otrzewnej. Badania in vitro wskazały górną granicę zastosowanych temperatur, badania ex-vivo umożliwiły prześledzenie zakresu przekazywanego ciepła w głąb tkanki a badanie in vivo udowodniło wykonalność i bezpieczeństwo zabiegu, wskazało zakresy temperatur osiągnięte w różnych punktach jamy otrzewnej w trakcie wykonywanego zabiegu oraz dało wgląd w zmiany histopatologiczne otrzewnej po zastosowaniu hipertermii gazowej.

Wyniki w przedstawionych pracach znacznie rozszerzają dostępną wiedzę na temat możliwości zastosowania innowacyjnych metod w leczeniu nowotworów otrzewnej zarówno ludzi i zwierząt oraz mają duży potencjał wdrożenia omawianych metod do zastosowania klinicznego.

W mojej ocenie cykl prac, będący zwartą monotematyczną grupą artykułów, opublikowanych w prestiżowych czasopismach, stanowi znaczny wkład do rozwoju dyscypliny „Weterynaria”.

Informacja o wskaźnikach naukometrycznych

Dorobek naukowy Kandydatki obejmuje 22 publikacje, w tym 18 prac oryginalnych, 4 artykuły przeglądowe, oraz 10 doniesień konferencyjnych. Na dzień składania wniosku sumaryczny współczynnik wpływu IF (impact factor) według roku publikacji wynosił 86,551 (wyłączając publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego – 73,583), a liczba punktów ministerialnych 1340 (wyłączając publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego - 920).

Jak widać z przytoczonego zestawienia od ostatniego awansu Kandydatka w sposób znaczący powiększyła swój dorobek naukowy/publikacyjny. Wg bazy danych WOS liczba prac indeksowanych wynosi 18, zaś liczba cytowani (bez autocytowań) wynosi 891. O istotnej cytowalności świadczy wysoki indeks Hischa wynoszący 10 (WOS).

Można powiedzieć, na tej podstawie, że Habilitantka jest cenioną autorką/współautorką znaczących prac naukowych nie tylko publikowanych w uznanych czasopismach, ale co najważniejsze cytowanych. Świadczy to z jednej strony o sprecyzowanym, określonym i dopracowanym warsztacie badawczym, a z drugiej strony o uznanej w środowisku pozycji naukowej (cytowania, IH). O wysokiej jakości publikowanych prac mogą świadczyć czasopisma publikujące prace Kandydatki. Należą do nich m.in. Journal of Cancer (IF 3,182), BMC Cancer (IF 4,43), BMC Pharmacol Toxicol (IF 2,605), Exp Ther Med (IF 2,75) i innych.

Poza pracami stanowiącymi osiągnięcie naukowe, gdzie wkład pracy Kandydatki był bardzo istotny i został przedstawiony opisowo w pozostałych pracach nie zaznaczono wkładu Kandydatki.

W zakresie realizacji art. 219 (Dz. U. 2023, poz 742) odnośnie istotnej aktywności naukowej albo artystycznej realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej dr Agata Mikołajczyk Martinez przebywała 2 miesiące na Faculty of Natural Sciences, Brandenburg University of Technology Cottbus, gdzie realizowała temat: Testowanie i optymalizacja metody negatywnej selekcji do mutagenyzy pałeczek Salmonella

Obecnie prowadzi badania dotyczące specyficzności substratowej enzymu deaminazy peptydyloargininowej w ramach stażu podoktorskiego w renomowanej jednostce, jaką jest Katedra Chemii Biologicznej i Bioobrazowania Politechniki Wrocławskiej, międzynarodowym grancie GRIEG, pt.: „Novel mechanisms of PAD activity regulation. Substrate specificity and activation of peptidyl arginine deiminase in the context of rheumatoid arthritis”

W 2018r. rozpoczęła współpracę z dr hab. Verią Khostrawipour oraz dr hab. Tanją Khosrawipour z Heinrich Heine-University and University Hospital Duesseldorf. Współpraca rozpoczęła się projektem: „Testowanie nowoczesnych technik chemioterapii bezpośredniej, w oparciu o metodę podciśnieniowej wewnątrztrzewnowej chemioterapii w aerozolu, w leczeniu nowotworów otrzewnej”. Została kierownikiem tego projektu po stronie polskiej.

Habilitantka realizowała bądź realizuje wiele tematów badawczych w tym w latach 2022 - 2024 – zadanie w międzynarodowym projekcie GRIEG (UMO-2019/34/H/NZ1/00674) „Nowe mechanizmy regulacji aktywności PAD. Specyficzność substratowa i aktywacja deiminaz peptydyloargininy w kontekście reumatoidalnego zapalenia stawów” , została laureatką programu LIDER XIII i będzie realizowała grant jako kierownik projektu „Zastosowanie hipertermii i dehydratacji gazowej skojarzonej z wewnątrztrzewnową podciśnieniową chemioterapią w aerozolu jako innowacyjna metoda terapii nowotworów otrzewnej. Optymalizacja procedury oraz konstrukcja prototypu urządzenia” (NCBiR)

Była również kierownikiem zadania badawczego nr B030/0022/15 oraz B030/0023/16, pt: „Badanie wpływu oddziaływań pomiędzy domeną lektynową a pilinową białek FimH Salmonella enterica serovar: Enteritidis, Typhimurium, Abortus-ovis, Choleraesuis, Dublin i Gallinarum, na ich powinowactwo do struktur oligomannozowych” jak również była kierownikiem zadania badawczego nr B030/0072/18, pt: „Określenie typu śmierci komórkowej

kurzych makrofagów po ich infekcji serowarami S. Enteritidis i 38 S. Gallinarum”. Kierowała także zadaniem badawczym nr B030/0046/19, pt: „Obrazowanie w czasie rzeczywistym inwazji pałeczek Salmonella Gallinarum wobec kurzej monocytarnomakrofagowej linii komórek HD11” .

Jak widać aktywność naukowa, w tym współpraca z jednostkami zagranicznymi, realizacja wspólnych projektów oraz publikacje opisujące uzyskane wyniki całkowicie wypełniają ustawowe wymagania wobec kandydatów ubiegających się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego (art. 219 pkt 2 Ustawy (Dz. U. 2023, poz 742)

W zakresie osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę dorobek Habilitantki nie jest imponujący. Prowadzenie zajęć dydaktycznych ze studentami wynika raczej z obowiązku dydaktycznego (doktoranta, asystenta, adiunkta) i wynosi określoną liczbę godzin, które w ramach pensum pracownik musi odbyć. Wg mnie nie jest osiągnięciem dydaktycznym opieka nad wolontariatem, rola opiekuna roku czy angażowanie studentów do realizacji projektów badawczych

Nie zmienia to jednak oceny Kandydatki, bowiem zatrudniona na stanowisku adiunkta naukowo-dydaktycznego ma przede wszystkim rozwijać się naukowo, a nie dydaktycznie.

Kandydatka pełni także rolę promotora pomocniczego w dwóch niezakończonych przewodach doktorskich lek.med. Agaty Diakun, pt: „Analiza możliwości zastosowania i biologicznej odpowiedzi na wewnątrztrzewnową hipertermię wytworzoną gazem powyżej 43°C”. oraz mgr. Marka Pieczki, pt: „Określenie różnorodności repertuaru i swoistości receptorów antygenowych limfocytów w przebiegu chłoniaków B i T komórkowych psa w celu wytworzenia szybkich testów diagnostycznych”.

Dosyć skromnie przedstawia się popularyzacja wiedzy w zakresie działalności popularnonaukowej, ale nie stanowi to szczególnej wady Kandydatki, bowiem jej działalność naukowa z nawiązką kompensuje to. Habilitantka jest również laureatką licznych nagród, a także jest angażowana jako recenzentka w renomowanych czasopismach naukowych (Journal of Infection – IF 38,637 Biology - IF 5,168 Frontiers in Pharmacology - IF 5,988 Diagnostics - IF 3,992 International Journal of Environmental Research and Public Health – IF 4,614 Infectious Disease Reports – IF 1,57

Podsumowanie

Przedłożony do oceny wniosek dr Agaty Mikołajczyk Martinez, a przede wszystkim osiągnięcie naukowe „*Eksperymentalne terapie nowotworów otrzewnej na modelach komórkowych oraz modelu zwierzęcym świni domowej (Sus scrofa domestica)*”, a także dorobek naukowo – badawczy i dydaktyczno organizacyjny oceniam łącznie pozytywnie. Takie stanowisko opiniującego wynika przede wszystkim z bardzo dobrego i wysoko ocenionego osiągnięcia naukowego, którego poszczególne składowe (artykuły) uzyskały pozytywne recenzję i zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach. Dr Agata Mikołajczyk Martinez ma znaczący dorobek naukowy, a osiągnięcie naukowe znacząco poszerza wiedzę i stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny.

Intencją ustawodawcy w zakresie nadawania stopni naukowych jest promowanie dojrzałych pracowników naukowych, potrafiących samodzielnie projektować, wykonywać badania i wyciągać wnioski, formułując uogólnienia stanowiące podstawę do dalszych badań. W tym przypadku spełniany jest podstawowy duch ustawy. Ten aspekt dr Agata Mikołajczyk Martinez wypełnia w całości.

Stwierdzam, że osiągnięcie naukowe Habilitantki oraz jej dokonania, uwzględniając wytyczne Ustawodawcy należy uznać za wystarczające do uzyskania stopnia doktora habilitowanego (Dz. U. z 2023, art. 219 ust.1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742).

Wnoszę do Rady Dyscypliny Weterynarii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie dr Agaty Mikołajczyk Martinez do dalszych etapów ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Prof. dr hab. Roman Lechowicki
LEKARZ WETERYNARII
Specjalista chorób psów i kotów
ul. Roży Bałty 13 m 16
01-494 WARSZAWA

