Ocena osiągnięć uzupełniających oraz osiągnięcia naukowego pod nazwą „PROANGIOGENNE I PRZECIWZAPLANE MECHANIZMY MOLEKULARNE I TERAPIA GENOWA W MODELACH EKSPERYMENTALNYCH CHORÓB UKŁADU SERCOWO-NACZYNIOWEGO" stanowiących podstawę do wszczęcia postępowania habilitacyjnego dr Agnieszki Jaźwy-Kusior

1. **Ocena uzupełniających osiągnięć naukowych i działalności dydaktyczno-organizacyjnej.**
Dr Agnieszka Jaźwa-Kusior jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego, gdzie w 2002 roku uzyskała tytuł magistra analityki medycznej. Pracę doktorską poświęconą zastosowaniu bicistronowych wektorów plazmidowych i AAV do transferu genów stymulujących procesy neowaskularyzacji wykonała na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ (WBBiB UJ) pod kierunkiem prof. dr hab. Józefa Dulaka. Po obronie pracy doktorskiej w 2008 roku kandydatka pracowała jako asystent a następnie od 2011 roku jako adiunkt na WBBiB UJ. Funkcję adiunkta na WBBiB UJ piastuje do dziś. W latach 2009-2010, kandydatka odbyła roczny staż podoktorski w Hiszpanii na Autonomicznym Uniwersytecie Madryckim (Universidad Autonoma de Madrid).

Zainteresowania naukowe dr Agnieszki Jaźwy-Kusior oscylują wokół terapii genowej chorób sercowo-naczyniowych (CVD), u których podłoża występują procesy niedokrwienne, często spowodowane przez miażdżycę. Pomimo coraz lepszych terapii chirurgicznych i farmakologicznych chorób sercowo naczyniowych, ciągle wiele osób umiera przedwcześnie lub zostaje dotknięta trwałym kalectwem na skutek braku odpowiedniego leczenia. CVD to najczęściej choroby wielogenowe, w stosunku do których terapia genowa jest dużym wyzwaniem. Jednakże, potencjalne zastosowanie takiej strategii terapeutycznej do leczenia CVD jest uzasadnione, ze względu na rokujące badania eksperymentalne. Ponadto, terapia genowa może mieć w przyszłości duże zastosowanie kliniczne w wielu obszarach. Dlatego zasadność podjętych przez kandydatkę badań, które mają na celu lepsze poznanie mechanizmów patogenezy CVD i wykorzystania tej wiedzy w potencjalnej terapii genowej, jest dobrze umotywowana.

Autorka koncentruje się głównie na dwóch genach o znaczeniu w procesach niedokrwiennych tkanek; oksygenazie hemowej (HO-1) i czynniku wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF). Ponadto przedmiotem badań są ostre procesy niedokrwienne dwóch narządów; kończyn dolnych i mięśnia sercowego. Na poziomie komórkowym, kandydatka badała wpływ leukocytów, ze szczególnym uwzględnieniem monocytów/makrofagów. W trakcie swojej pracy badawczej na przestrzeni ostatnich lat, kandydatka analizowała także udział komórek układu immunologicznego w patogenezie sarkoidozy, poszukując równocześnie potencjalnych biomarkerów tej choroby płuc. Badała także procesy reperfuzji i neowaskularyzacji tkanek w szerszym kontekście, np. analizując proces regeneracji mięśnia sercowego po zawale przy użyciu terapii wykorzystującej komórki mezenchymalne, czy charakteryzując proangiogenne efekty czynnika transkrypcyjnego Nrf2.

Dr Agnieszka-Jaźwa-Kusior wykazywała się aktywnością naukową we wszystkich wymienionych obszarach, o czym świadczą publikacje dokumentujące Jej działalność. Wśród osiągnięć naukowych kandydatki, znajdują się głównie publikacje w dobrych lub bardzo

dobrych czasopismach międzynarodowych. Za swoje osiągnięcia habilitantka była wielokrotnie nagradzana. Na przykład, otrzymała prestiżowe stypendium START przyznawane przez FNP dla młodych uczonych. W ostatnim okresie była członkiem nagrodzonego zespołu za działalność naukową w ramach kilku nagród przyznanych przez Rektora UJ (ostatnia nagroda w roku akademickim 2017/2018). Jej praca badawcza Jej przedmiotem zainteresowania międzynarodowego środowiska naukowego, o czym świadczą zaproszenia do wygłoszenia referatów na międzynarodowych konferencjach naukowych. Ponadto, dr Agnieszka Jaźwa-Kusior była recenzentem prac naukowych w kilkunastu czasopismach o zasięgu międzynarodowym, a także ekspertem w gremiach oceniających wnioski grantowe w ramach konkursów NCN i MON. Prowadziła również sesje na międzynarodowych konferencjach naukowych lub brała udział w organizacji krajowych konferencji naukowych, co świadczy o tym, że jest fachowcem rozpoznawanym w swojej dziedzinie.

Kandydatka łącznie opublikowała 30 prac (20 doświadczalnych i 10 przeglądowych) w czasopismach zagranicznych i krajowych. Z tego dorobku, w bazie ISI znajduje się 15 prac doświadczalnych oraz 5 prac przeglądowych. Sumaryczny Impact Factor (IF) prac, które opublikowała kandydatka wynosi około 119. Prace dr Jaźwy-Kusior cytowano łącznie około 1000 razy (podana liczba nie zawiera autocytowań), a odpowiadający im indeks Hirscha habilitantki wynosi 16 (dane wg bazy Web of Science z 2019). Powyższe wskaźniki są wysokie, i są świadectwem dojrzałości naukowej kandydatki.

Opublikowane prace dr Agnieszki Jaźwy-Kusior były do tej pory finansowane ze środków przyznanych przez NCN, FNP i MNiSW, w których kandydatka pełniła rolę kierownika projektu. Jeden z grantów przyznanych przez NCN jest w trakcie realizacji. Ponadto, dr Agnieszka Jaźwa-Kusior była wykonawcą w kilku projektach finansowanych przez polskich i międzynarodowych grantodawców.

Osiągnięcia dydaktyczne dr Agnieszki Jaźwy-Kusior obejmują wykłady z Biochemii Medycznej, kurs obowiązkowy dla studentów studiów I stopnia na kierunku Biochemia i opracowanie treści wykładów i protokołów na zajęcia laboratoryjne z Biochemii medycznej. Na podkreślenie zasługuje fakt, że kandydatka uczestniczyła w zajęciach dydaktycznych mimo braku formalnego obowiązku dydaktycznego, (jest zatrudniona na stanowisku adiunkta bez obowiązku dydaktycznego). Ponadto, na konto Jej osiągnięć dydaktycznych można zapisać opiekę naukową nad 6 studentami studiów licencjackich i 3 studentami studiów magisterskich w Zakładzie Biotechnologii Medycznej WBBiB UJ. Dodatkowo, dr Agnieszka Jaźwa-Kusior sprawowała opiekę nad dwoma doktorantami i pełni rolę promotora pomocniczego w jednym otwartym przewodzie doktorskim.

Podsumowując, na podstawie przedstawionych materiałów stwierdzam, że osiągnięcia naukowe dr Agnieszki Jaźwy-Kusior są wartościowe merytorycznie. Kandydatka posiada kilka własnych wysokobudżetowych grantów badawczych, dzięki którym w znacznej mierze było możliwe finansowanie badań, które stanowią podstawę przedstawionego do oceny jej głównego osiągnięcia naukowego a także szerszego dorobku naukowego. Ponadto, wkład kandydatki w powstanie zbiorowych prac badawczych był w większości przypadków

dominujący. W mojej opinii, wymienione dotychczasowe osiągniecia kandydatki są bardzo dobrym prognostykiem dla Jej dalszej efektywnej pracy naukowej w roli samodzielnego pracownika naukowego.

2. **Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę wszczęcia postępowania habilitacyjnego.**

2a. Ocena zgodności z wymogami formalnymi.

Podstawę osiągnięcia naukowego dr Agnieszki Jaźwy-Kusior stanowią cztery współautorskie prace doświadczalne i dwa artykuły przeglądowe opublikowane w zagranicznych czasopismach naukowych z bazy JCR. W trzech pracach doświadczalnych kandydatka jest autorem korespondencyjnym a w jednej współautorem korespondenycjnym (w połowie prac również pierwszym autorem). W obu pracach przeglądowych dr Agnieszka Jaźwa-Kusior jest pierwszym autorem, i w jednej autorem korespondencyjnym a w drugiej współautorem korespondencyjnym. Wymienione prace doświadczalne opublikowano w latach 2013-2018, w następujących anglojęzycznych czasopismach międzynarodowych z listy filadelfijskiej: *Vasul. Pharmacol.* IF=3,6 -2,5 (2 prace), *Basic Res Cardiol* IF=5,3 (1 praca) oraz *Cardiovascular Res*, IF=5,8 (1 praca). Łączna liczba cytowań wymieniony prac (Baza Web of Science z kwietnia 2019) jest wysoka (biorąc pod uwagę niedawne daty publikacji) i wynosi ponad 75 cytowań.

Udział kandydatki w powyższych pracach uznaję za kluczowy. Podstawą tej oceny jest pierwszoplanowa pozycja kandydata na liście współautorów, niewielka liczba współautorów poszczególnych prac, jak również oświadczenia współautorów prac i informacja zawarta w autoreferacie kandydatki. W świetle tej oceny przedstawiony materiał spełnia wymogi formalne określone w Ustawie dla prac habilitacyjnych, w skład których wchodzą publikacje współautorskie.

2b. Zakres i wartość merytoryczna osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe dotyczy roli HO-1 i VEGF w epizodach niedokrwiennych mięśni szkieletowych oraz mięśnia sercowego, oraz potencjału terapeutycznego tych czynników w procesach związanych z niedotlenieniem tkanek.

W pracy badawczej posłużono się wymagającymi manualnie modelami badawczymi takimi jak; ostre wywołane chirurgicznie niedokrwienie kończyny dolnej, poprzez podwiązanie tętnicy i żyły udowej czy niedokrwienie mięśnia sercowego, poprzez podwiązanie lewej gałęzi zstępującej tętnicy wieńcowej. Zastosowano także kilka nowoczesnych technik służących do nadekspresji genów o potencjalnym działaniu terapeutycznym, takich jak; transfer genów metodą sonoporacji, czy użycie wektorów do nadekspresji HO-1 i/lub VEGF (w tym wektorów bicistronowych), które pozwoliły na przejściową i regulowaną przez warunki hipoksyjne ekspresję transgenu(ów) w obszarze niedokrwiennym.

Badano wpływ genetycznego deficytu HO-1 na rewaskularyzację i reperfuzję tkanek po incydencie niedokrwiennym, oraz potencjał tych czynników do niwelowania niekorzystnych zmian związanych z niedotlenieniem, poprzez wywołanie lokalnej nadekspresji HO-1 i/lub VEGF w uszkodzonych obszarach tkankowych.

Genetyczny deficyt HO-1 skutkował zwiększoną apoptozą i zmniejszeniem liczby kapilar w wyniku niedokrwienia kończyny dolnej. Lokalna nadekspresja tego genu niwelowała jego deficyt, powodując porównywalną do zwierząt kontrolnych regenerację mięśni objętych procesem niedokrwiennym. Wpływ HO-1 na proces rewaskularyzacji i reperfuzji był badany na poziomie RNA (ekspresja cytokin prozapalnych, czy genów biorących udział w odbudowie uszkodzeń), histologicznej i immunohistochemicznej ocenie procesu unaczynienia uszkodzonego mięśnia oraz nacieków komórek zapalnych, jak również funkcjonalnie, przy użyciu przyżyciowych metod obrazowych.

Z kolei jednoczesna nadekspresja HO-1 i VEGF, w porównaniu do HO-1 przyspieszała reperfuzję i zmniejszała uszkodzenia po incydencie niedokrwiennym kończyny dolnej. Ten efekt nie był jednak wynikiem zwiększenia proangiogennego działania dostępnych jednocześnie czynników, a dodatkowo nasilał lokalny stan zapalny. Dr Jaźwa-Kusior rozwija wątek potencjalnych niekorzystnych skutków terapii za pomocą VEGF, zwracając uwagę nie tylko na nasilenie stanu zapalnego podczas stosowania takiej terapii, ale także inne skutki uboczne. Moim zdaniem, może to oznaczać, że habilitantka podchodzi z twórczym krytycyzmem do własnych badań i rzetelnie opisuje nie tylko zalety ale także wady stosowania czynników takich jak VEGF w leczeniu skutków epizodów niedokrwiennych.

W przypadku epizodu niedokrwiennego mięśnia sercowego, wyłączenie genu HO-1 znacznie bardziej upośledzało funkcje serca i skutkowało zwiększonymi naciekami zapalnymi, wśród których wyodrębniono określone populacje monocytów/makrofagów. Istotna rolę w tym procesie mogły pełnić mobilizowane ze śledziony monocyty, ponieważ splenotektomia skutkowała zmniejszoną mobilizacją tych leukocytów do serca po zawale, a zarazem polepszeniem parametrów pozawałowych. Deficyt HO-1 w tym modelu eksperymentalnym, również miał skutki pozytywne, związane ze zwiększeniem przeżywalności w pierwszych dobach po zawale, co korelowano ze podniesieniem poziomu ekspresji kolagenu typu I, przypuszczalnie przyczyniającego się do usztywnienia ściany serca.

W podsumowaniu, zaprezentowane osiągnięcie naukowe dotyczy istotnego problemu naukowego i wnosi konkretny i wymierny wkład do wiedzy na temat roli HO-1 oraz VEGF w procesach niedokrwiennych tkanek i organów. W trakcie realizacji pracy badawczej opisano interesujące zależności; np. te pomiędzy HO-1, prozapalnymi monocytami, komponentami macierzy zewnątrzkomórkowej i przebudową serca po zawale. Ponadto, publikacje kandydatki, także publikacje przeglądowe, przedstawiają pozytywne i negatywne skutki stosowania terapii genowej przy użyciu genów takich jak VEGF w leczeniu CVD i wskazują na konieczność lokalnej kontroli poziomu ekspresji transgenów do osiągnięcia zamierzonych celów terapeutycznych. Prace te, w oparciu o wyniki własne pochodzące z modeli eksperymentalnych, poszerzają rozumienie znaczenia proangiogennych i antyzapalnych czynników w regulacji procesów odnowy tkankowej po epizodach niedokrwiennych. Równocześnie podejmują ważną dyskusję na temat możliwości, i strategii regulacji poziomu transgenów w terapii genowej nakierowanej na leczenie CVD.

3. Wnioski końcowe.

Przedstawione do oceny osiągnięcia naukowe i osiągnięcia uzupełniające **spełniają** wymogi stawiane tego typu postępowaniom habilitacyjnym. Zgłaszam zatem formalny wniosek do Rady Wydziału Biochemii Biofizyki i Biotechnologii UJ o dopuszczenie dr Agnieszki Jaźwy-Kusior do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. Joanna Cichy

