



Poznań, 03.01.2022 r.

Recenzja w postępowaniu habilitacyjnym Pani Doktor Justyny Stefanowicz-Hajduk

1. Przebieg edukacji i kariery zawodowej

Pani dr Justyna Stefanowicz-Hajduk ukończyła studia na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Gdańsku, uzyskując w 2002 r. stopień magistra farmacji, w specjalności farmacja kliniczna. Następnie w latach 2003-2007 była doktorantką Dziennego Studium Doktoranckiego w Akademii Medycznej w Gdańsku, gdzie w 2008 r. na Wydziale Farmaceutycznym obroniła pracę doktorską pt. " Zróżnicowanie genetyczne oraz ocena aktywności biologicznej metabolitów wtórnych *Paris quadrifolia* L. i *Polygonatum multiflorum* (L.) All.", której promotorem była prof. dr hab. J. Renata Ochocka. W latach 2007-2010 pracowała jako asystent w Katedrze i Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, a od roku 2010 do chwili obecnej jako adiunkt w tej samej jednostce, której kierownikiem jest prof. dr hab. J. Renata Ochocka. Habilitantka, w roku 2017 uzyskała dyplom ukończenia studiów podyplomowych na kierunku Kosmetologia bioestetyczna w Wyższej Szkole Zdrowia w Gdańsku.

2. Ocena dorobku naukowego.

Na dorobek naukowy dr Justyny Stefanowicz-Hajduk składają się artykuły opublikowane w czasopiśmie naukowych, prace popularno-naukowe oraz streszczenia z międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych.

Wg znajdującej się w dokumentacji analizy bibliometrycznej wykonanej przez Bibliotekę Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego Habilitantka jest autorem 26 prac naukowych o łącznym współczynniku oddziaływania $IF=40.321$. Suma punktów MNiSW całkowitego dorobku naukowego wynosi $=930,5$. Liczba cytowań według bazy Web of Science Core Collection wynosi 132, a bez autocytowań $=117$. Index Hirsha = 7. Liczby te świadczą o zainteresowaniu innych naukowców tematyką badawczą Habilitantki. Większość prac

oryginalnych została opublikowana w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej, co świadczy o ich wysokim poziomie merytorycznym i oryginalności, jak również o potencjalnej aplikacyjności wyników. O dużej aktywności naukowej świadczy ponadto udział Dr Justyny Stefanowicz-Hajduk w 26 konferencjach i sympozjach naukowych krajowych i międzynarodowych, gdzie prezentowała swoje wyniki badań, w formie posterów, jak również trzech wystąpieniach ustnych.

Ogólnie, działalność naukowa Kandydatki ma charakter bardzo spójny. Po doktoracie konsekwentnie kontynuowała wcześniej nakreśloną tematykę badań nad roślinnymi surowcami bogatymi w saponiny steroidowe, określając aktywność ekstraktów i wyizolowanych związków. Oceniając cały dorobek naukowy z podziałem na okresy, przed i po doktoracie, należy zauważyć, że został on zdecydowanie zwiększony w liczbie prac oryginalnych. W 15 z 20 prac opublikowanych po doktoracie Habilitantka występowała jako pierwszy/drugi autor. Wyraźny postęp w rozwoju naukowym i powiększanie dorobku naukowego widać w okresie po doktoracie, od roku 2009. Habilitantka w całym okresie zatrudnienia w katedrze, i wcześniej jako doktorantka, pogłębiała wiedzę, uczestnicząc w stażach, warsztatach i szkoleniach o różnej tematyce. W 2009 roku Kandydatka odbyła, istotne dla jej rozwoju naukowego, dwumiesięczne szkolenie z technik hodowli komórkowych *in vitro* oraz analiz metodą cytometrii przepływowej w Katedrze i Zakładzie Fizjopatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Podczas kolejnych warsztatów naukowych Habilitantka m.in. poznała różne metody molekularne stosowane w biotechnologii, techniki elektroforetycznego rozdziału metabolitów roślinnych i kwasów nukleinowych (1 tydzień w Belgii), zagadnienia związane z mikroskopią elektronową i technikami oceny działania cytotoksycznego związków w komórkach nowotworowych. Zdobyta wiedza i umiejętności praktyczne zostały wykorzystane w realizacji licznych projektów, a także pozwoliły Habilitantce na poszerzenie eksperymentów o badania aktywności cytotoksycznej związków w utworzonym w Katedrze i Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Laboratorium Hodowli Komórkowej. Ponadto, dr Justyna Stefanowicz-Hajduk ukończyła studia podyplomowe na kierunku Kosmetologia bioestetyczna w Wyższej Szkole Zdrowia w Gdańsku, co wpłynęło na poszerzenie wiedzy i umiejętności z zakresu działania bioaktywnych metabolitów w komórkach skóry ludzkiej. Wysoko oceniam zdobyte podczas staży doświadczenie, co niewątpliwie wzbogaciło dalszą pracę Habilitantki i pozwoliło ukierunkować, samodzielnie zaplanować i realizować badania.

Pewną słabszą stroną w aktywności naukowej Habilitantki jest brak kierownictwa dużym grantem NCN. Jednak uzyskanie finansowania z innych źródeł świadczą o potencjalnej możliwości stworzenia przez Habilitantkę własnego zespołu badawczego i pozyskanie funduszy na kolejne prace badawcze. Dr Justyna Stefanowicz-Hajduk otrzymała dotacje w ramach: 1)

zadania badawczego dla Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego p.t. „Izolacja i identyfikacja strukturalna metabolitów gatunku *Paris quadrifolia* L.”, 2) kierowania trzema projektami uczelnianymi: "Badania genetyczne i fitochemiczne *Polygonatum multiflorum* (L.) All oraz *Paris quadrifolia* L. z zastosowaniem elektroforezy kapilarnej oraz aktywność biologiczna wybranych saponozydów steroidowych", „Określenie aktywności cytotoksycznej *in vitro* w izolowanych frakcji i związków z ekstraktu *Paris quadrifolia* L. na różnych liniach komórek nowotworowych” oraz "Badania aktywności cytotoksycznej metabolitów wtórnych”, 3) kierowania grantem NCN Miniatura-4 pt. "Cytotoksyczność ekstraktu *Kalanchoe daigremontiana* w komórkach ludzkiego raka jajnika SKOV-3 oraz jego działanie *in vitro* z lekami cytostatycznymi stosowanymi w terapii przeciwnowotworowej”, oraz 4) uczestnictwa jako główny wykonawca w granie promotorskim p.t. „Mechanizmy aktywności cytotoksycznej *Paris quadrifolia* L. oraz *Trigonella foenum-graecum* L.” Otrzymanie finansowania z w/w projektów badawczych Habilitantka wykorzystwała do realizacji badań opublikowanych w kilku pracach cyklu habilitacyjnego.

Pozycję naukową dr Justyny Stefanowicz-Hajduk określa też Jej szeroka współpraca z licznymi jednostkami naukowymi własnej uczelni oraz z kilkoma krajowymi zespołami badawczymi. Habilitantka skutecznie realizuje badania we współpracy z zespołami o zróżnicowanym profilu badawczym, co pozwoliło poszerzyć tematykę prac o nowe zagadnienia. Świadczy to o zdolnościach organizacyjnych i dużej dojrzałości naukowej Habilitantki, która potrafi skoordynować prowadzenie wielokierunkowych badań we współpracy, prawidłowo wyciągnąć wnioski i przygotować manuskrypt do publikacji.

Uznaniem wiedzy z zakresu analizy fitochemicznej oraz badań aktywności związków naturalnych są zaproszenia dr Justyny Stefanowicz-Hajduk przez komitety redakcyjne renomowanych czasopism naukowych do recenzowania manuskryptów prac eksperymentalnych. Habilitantka wykonała 34 recenzje do czasopism o wysokim współczynniku oddziaływania, m.in. do *Antioxidants*, *Plos One*, *Molecules*, *Steroids*, *Life*, *Scientia Pharmaceutica*, *Cell Proliferation*, *Natural Product Research*, *Cellular and Molecular Biology Letters*, *Scientific Reports*, *Foods*, *Biomolecules*, *Heliyon*, *Integrative Cancer Therapies*, *Nutrition and Cancer*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Applied Sciences* i innych. Od kilku lat jest członkiem zespołu recenzentów w czasopismach MDPI oraz członkiem Reviewer Board w *Separation* i *Chemistry*. Te zaproszenia i udział w zespołach recenzentów świadczą o rozpoznawalności dr Justyny Stefanowicz-Hajduk i już wysokiej pozycji w świecie naukowym. O dużych osiągnięciach naukowych świadczą także 4 zespołowe nagrody naukowe otrzymane od rektora GUMed w latach 2010-2018.

Na szczególną uwagę zasługuje potencjalna aplikacyjność szeregu wyników badań. Między innymi, Autorka wskazuje na dwa glikozydy pennogeniny o wyjaśnionym molekularnym mechanizmie działania, które mogą być potencjalnymi roślinnymi kandydatami do zastosowań w terapii przeciwnowotworowej. Aplikacyjność posiadają także wyniki badań układów dyspersyjnych, które mogą znaleźć zastosowanie jako bezpieczne pozajelitowe nośniki leków czy w zakresie regeneracji płytek w systemie RTCA.

Podsumowując działalność naukowo-badawczą Pani dr Justyny Stefanowicz-Hajduk pragnę podkreślić Jej dużą aktywność badawczą przez cały okres swojej pracy naukowej. Autorka wykazała się dobrą znajomością i wykorzystaniem najnowocześniejszej metodyki badawczej z różnych dyscyplin naukowych, zarówno z zakresu biologii i diagnostyki molekularnej, genetyki, fitochemii, oraz wykorzystania różnych technik w ocenie aktywności biologicznej *in vitro* metabolitów roślinnych. Jej prace są przykładem interdyscyplinarnych badań, które prowadziła w oparciu o współpracę naukową z wybitnymi specjalistami z wielu ośrodków naukowych w kraju, dysponujących nowoczesną metodyką. Za bardzo wartościowe i świadczące o dojrzałości naukowej Habilitantki należy uznać także stworzenie nowoczesnego warsztatu badawczego w macierzystej jednostce.

3. Ocena osiągnięcia naukowego

Wskazane do oceny osiągnięcie naukowe dr Justyny Stefanowicz-Hajduk pt. „Aktywność przeciwnowotworowa *in vitro* roślinnych surowców steroidowych i ich głównych metabolitów wtórnych” będące podstawą rozprawy habilitacyjnej stanowi tematycznie powiązany cykl 6 prac oryginalnych. Prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach międzynarodowych (Pharmacognosy Magazine, PloS One, Pharmaceutical Biology (3), Planta Medica) w latach 2014-2021. Prace posiadają łączną wartość współczynnika oddziaływania IF=15,913, a łączna punktacja MNiSW wynosi 365, co świadczy o dobrym poziomie przedstawionego cyklu. Z formalnej oceny wynika również, że średni IF cyklu wynosi 2,652, co w naukach farmaceutycznych jest wynikiem bardzo dobrym. Habilitantka jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym w pięciu z sześciu publikacji. Znaczący wkład naukowy Habilitantki w powstawanie tych prac jest niewątpliwy i polegał na: opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu lub współdziałanie w zaplanowaniu badań eksperymentalnych, zebraniu materiału roślinnego do badań, wykonaniu ekstraktów roślinnych i frakcji, przeprowadzeniu analiz aktywności cytotoksycznej związków steroidowych na liniach komórkowych, wykonaniu analiz cytometrycznych, opracowaniu i interpretacji wyników oraz napisaniu lub współdziałanie w przygotowaniu manuskryptu. Należy jednak wspomnieć, że wykonanie badań aktywności cytotoksycznej w pierwszej publikacji z cyklu oraz części analiz fitochemicznych było efektem

współpracy z innymi jednostkami naukowymi. Kolejne badania związane z aktywnością cytotoksyczną Habilitantka przeprowadzała już w macierzystej jednostce, w utworzonym w Katedrze i Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Laboratorium Hodowli Komórkowej, dzięki odbyciu w 2009 roku szkolenia w zespole prof. Jacka Witkowskiego z technik hodowli komórkowej *in vitro* oraz analiz cytometrycznych w Katedrze i Zakładzie Fizjopatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Zdobyta wiedza i umiejętności praktyczne pozwoliły na podjęcie badań mających na celu określenie mechanizmów działania w komórkach nowotworowych najbardziej aktywnych związków.

Wspólną osią badań przedstawionych w cyklu osiągnięcia są wybrane roślinne surowce steroidowe i ich aktywność cytotoksyczna. W cyklu prac Habilitantki można wyróżnić dwa kierunki badawcze: analizy fitochemiczne surowców z określeniem zawartości i izolacją głównych związków - saponin steroidowych i związków flawonoidowych w wybranych surowcach oraz ocenę aktywności biologicznej ekstraktów i/lub wyizolowanych związków. Jest to logicznie zaplanowany i zrealizowany cykl badań prowadzący od wyboru surowców roślinnych zawierających związki steroidowe do otrzymywania ekstraktów, frakcji i głównych metabolitów oraz określenia aktywności biologicznej w komórkach nowotworowych, zmierzający do poznania mechanizmów działania cytotoksycznego.

Saponiny należą do grupy wtórnych metabolitów, które posiadają różnorodne właściwości, w tym farmakologiczne i lecznicze. Ich szerokie spektrum działania stwarza szereg możliwości aplikacyjnych. Duże zainteresowanie i nadzieje budzi szczególnie ich, szeroko pojęta, aktywność przeciwnowotworowa. Badania Habilitantki wpisują się zatem w poszukiwanie nowych naturalnych związków pochodzenia roślinnego, które mogłyby być potencjalną alternatywą dla leków syntetycznych stosowanych w terapii przeciwnowotworowej. Wiedza na temat aktywności cytotoksycznej, proapoptotycznej czy antymitotycznej saponin steroidowych nadal wymaga badań wyjaśniających mechanizm ich działania. Podjęte przez Kandydatkę badania są więc bardzo aktualne i uzasadnione.

Prowadzone w dwóch pierwszych pracach badania nad związkami *Paris quadrifolia* znacząco uzupełniły wiedzę o strukturze i zawartości zidentyfikowanych sześciu saponin steroidowych w czworoliście [H-1], a także o aktywności cytotoksycznej związków i mechanizmach śmierci komórkowej indukowanej przez pochodne pennogeniny wyizolowanych z kłączy. Dużym osiągnięciem Habilitantki jest opracowanie molekularnego mechanizmu działania dwóch pochodnych pennogeniny, które indukują programowaną śmierć komórkową. Wykazano, że zarówno mitochondrialny szlak, jak i zewnętrzny receptorowy biorą udział w apoptozie komórek nowotworowych raka szyjki macicy HeLa. Droga receptorowa apoptozy wywołana przez badane glikozydy pennogeniny została przedstawiona przez Habilitantkę po raz

pierwszy, sugerując, że związki te mogą być potencjalnymi kandydatami brnymi pod uwagę w terapii przeciwnowotworowej [H-2].

W kolejnych badaniach, dotyczących wybranych, znanych z lecznictwa tradycyjnego, gatunków z rodzaju *Kalanchoe* w kontekście, sygnalizowanych w piśmiennictwie, właściwości przeciwnowotworowych tych roślin, zawierających metabolity steroidowe – bufadienolidy, określono aktywność cytotoksyczną i przeciwdrobnoustrojową *in vitro* ekstraktów i kolejno - wyizolowanych bufadienolidów. Należy podkreślić, że badania prowadzono aż na czterech wybranych liniach ludzkich komórek nowotworowych – raku szyjki macicy HeLa, raku jajnika SKOV-3, raku piersi MCF-7 oraz komórkach czerniaka A375 [H-3 i H-4]. Po raz pierwszy przedstawiono aktywność biologiczną różnych ekstraktów trzech gatunków z rodzaju *Kalanchoe* w powiązaniu z zawartością głównych związków steroidowych. Autorka, na podstawie wyników analizy fitochemicznej oraz badań cytotoksyczności wykazała, że aktywność antyproliferacyjna ekstraktów *Kalanchoe* w komórkach nowotworowych nie zależy tylko od zawartości bufadienolidów. Dużym osiągnięciem Habilitantki jest zidentyfikowanie w liściach *K. daigremontiana* sześciu bufadienolidów oraz dziewiętnastu flawonoidów, w tym aż szesnastu nowych dla badanego gatunku, z zastosowaniem techniki wysokosprawnej chromatografii ciekowej sprzężonej ze spektrometrią mas (HPLC-DAD-ESI-MS) [H-4]. Sukcesem jest także wskazanie na silną aktywność cytotoksyczną 1,3,5-ortoocyanu bersaldegeniny i wyjaśnienie mechanizmu działania w komórkach nowotworowych [H-5]. Związek ten silnie hamuje proliferację komórek raka szyjki macicy HeLa, indukuje, niezależną od kaspaz, śmierć komórek, uszkodzenie nici DNA i hamowanie cyklu komórkowego. Ponadto, za istotną poznawczo uważam szczegółową analizę fitochemiczną saponin steroidowych i flawonoidów w ekstraktach i frakcjach z nasion kozieradki *Trigonella foenum-graecum* przeprowadzona nowoczesnymi metodami wysokosprawnej chromatografii ciekowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Istotne było określenie ich synergizmu w aktywności cytotoksycznej wobec ludzkich komórek nowotworowych – raka jajnika SKOV-3, raka szyjki macicy HeLa i komórkach białaczki limfoblastycznej MOLT-4, opisanych przez Autorkę po raz pierwszy [H-6].

Prace habilitacyjne odślaniają też liczne umiejętności warsztatowe dr Justyny Stefanowicz-Hajduk w pracy doświadczalnej. Są to: izolacja DNA z materiału roślinnego, analizy zmienności genetycznej materiału roślinnego metodami molekularnymi ISSR i RAPD, izolacja DNA i RNA z modelowych linii komórkowych, badania aktywności z zastosowaniem systemu Real-Time Cell Analyzer, przygotowywanie próbek do analiz chemicznych i do badań biologicznych, identyfikacja i oznaczanie zawartości metabolitów za pomocą nowoczesnej wysokosprawnej chromatografii ciekowej sprzężonej ze spektrometrią mas.

Najważniejszym osiągnięciem Habilitantki opisanych w cyklu prac zgłoszonych jako osiągnięcie naukowe jest rzetelne przedstawienie, po raz pierwszy, molekularnych mechanizmów działania badanych związków w komórkach nowotworowych (prace H-2 i H-5). Te aspekty poznawcze uważam za szczególnie cenne, bowiem stanowią one podstawę do szczegółowego wyjaśniania szlaków molekularnych prowadzących do śmierci komórek. Istotne są wyniki badań nad bufadienolidami, które stanowią ważny etap w dalszej ocenie tych metabolitów jako potencjalnych kandydatów do zastosowania w terapii przeciwnowotworowej.

4. Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzującej naukę

Dr Justyna Stefanowicz-Hajduk jest doświadczonym nauczycielem akademickim. Od roku 2003 do chwili obecnej prowadzi zróżnicowane zajęcia dydaktyczne w Katedrze Biologii i Botaniki Farmaceutycznej. Są to ćwiczenia z biologii, parazytologii oraz botaniki dla studentów I roku kierunku farmaceutycznego, z biologii dla studentów I roku kierunku medycyny laboratoryjnej oraz zajęcia fakultatywne z biologii oraz botaniki dla studentów I roku kierunku przemysłu farmaceutycznego i kosmetycznego, dla studentów I i II roku kierunku farmaceutycznego „Składniki naturalne stosowane w kosmetologii” (fakultet autorski) oraz dla studentów IV roku kierunku farmaceutycznego „Metody biologii molekularnej w identyfikacji leczniczych surowców roślinnych”. Ponadto, od 2018 roku prowadzi ćwiczenia z biologii, parazytologii oraz botaniki dla studentów anglojęzycznych. Do chwili obecnej była także opiekunem siedemnastu prac magisterskich na kierunku farmaceutycznym.

Nie odnalazłam w dokumentacji Pani dr Justyna Stefanowicz-Hajduk faktów świadczących o aktywności organizacyjnej, w szczególności w gremiach/komisjach/zespołach zarówno wydziałowych jak i uczelnianych. W ramach aktywności organizacyjnej, Habilitantka trzykrotnie pełniła funkcję opiekuna studentów I roku kierunku farmaceutycznego. Kandydatka ma jednak swój udział w popularyzacji nauki. Brała udział w organizacji Medycznego Dnia Nauki, prowadziła tygodniowe szkolenie z towaroznawstwa zielarskiego organizowane przez Ośrodek Szkolenia Podyplomowego Wydziału Farmaceutycznego. Od 2015 r. prowadzi warsztaty dla uczniów szkoły podstawowej z zagadnień obejmujących parazytologię lekarską. Pani Dr Justyna Stefanowicz-Hajduk jest członkiem Izby Aptekarskiej w Gdańsku. Kilka lat łączyła działalność naukową na uczelni z pracą w aptece, a co warto nadmienić w okresie pandemii pracowała w ramach wolontariatu w Aptece Szpitalnej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku.

Niewątpliwie, Habilitantka jest osobą bardzo aktywną zawodowo, wykazującą także współpracę z otoczeniem społecznym i gospodarczym. Wypracowany dorobek naukowy oraz

szeroka działalność dydaktyczna i popularyzatorska skutkuje uznaniem, że jest Ona kandydatem spełniającym warunki do nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Podsumowanie

Po analizie cyklu sześciu prac oryginalnych, stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego Habilitantki, całego dorobku naukowego, działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej pani dr Justyny Stefanowicz-Hajduk, stwierdzam, że spełniają one kryteria stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego, zgodnie z obowiązującą Ustawą o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki. Osiągnięcie naukowe dr Justyny Stefanowicz-Hajduk spełnia kryteria określone w art. 219 ust.1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 późn.zm.).

Wyniki badań fitochemicznych i biologicznych stanowią istotny wkład poznawczy do dotychczasowej wiedzy dotyczącej surowców roślinnych zawierających związki steroidowe, które posiadają aktywność cytotoksyczną wobec komórek nowotworowych i mogą stać się potencjalnymi kandydatami do dalszych badań *in vivo* i zastosowania w terapii przeciwnowotworowej. Osiągnięcia Habilitantki stanowią twórczy wkład do wiedzy z obszaru biologii farmaceutycznej w zakresie aktywności cytotoksycznej i próby wyjaśnienia mechanizmów działania ekstraktów i wyizolowanych saponin steroidowych na komórki nowotworowe. Cały dorobek Habilitantki świadczy o dojrzałości do samodzielnej pracy naukowej, współpracy z różnymi zespołami badawczymi i zdolności planowania wspólnych projektów.

W pełni popieram wniosek przedstawiony przez Kandydatkę dr Justynę Stefanowicz-Hajduk o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk farmaceutycznych.



/prof. dr hab. Barbara Thiem/