Prof. dr hab. n. med. Jacek Roliński

KATEDRA I ZAKŁAD IMMUNOLOGII KLINICZNEJ

UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE

ul. Chodźki 4a Tel. (0-81) 448 64 20

20-093 Lublin fax (0-81) 448 64 21

e-mail: jacek.rolinski@gmail.com

Lublin dn. 10.01.2017r.

Ocena

osiągnięcia naukowego pt. „Wpływ wybranych leków i nanocząsteczek na mechanizm apoptozy w limfocytach białaczkowych przewlekłej białaczki limfocytowej (PBL)" oraz dorobku naukowego dr Idy Franiak-Pietrygi, starszej specjalistki ds. naukowo-technicznych w Katedrze Genetyki Klinicznej i Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

1) Życiorys naukowy

Dr Ida Franiak-Pietryga ukończyła studia w 1999 r., na Oddziale Analityki Medycznej, Wydziału Farmaceutycznego, Akademii Medycznej w Łodzi (obecnie Uniwersytet Medyczny), uzyskując dyplom magistra analityki medycznej. W latach 1999 - 2003 r. odbyła Studia Doktoranckie na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytetu Łódzkiego. W 2003r. uzyskała tytuł doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biofizyka na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytetu Łódzkiego, na podstawie rozprawy pt. „Zmiany właściwości błon erytrocytarnych ludzi chorych na hipercholesterolemię typu II leczonych statynami". W 2007 roku uzyskała prawo wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego. W latach 2007–2010 była zatrudniona na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Od 2013r. do chwili obecnej pracuje w Katedrze Genetyki Klinicznej i Laboratoryjnej, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi na stanowisku starszego specjalisty ds. naukowo-technicznych. Dodatkowo od 2011 roku jest zatrudniona na stanowisku asystenta w Pracowni Immunologii Klinicznej, Transplantacyjnej i Genetyki, Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. Mikołaja Kopernika w Łodzi, gdzie zajmuje się diagnostyką białaczek z wykorzystaniem metod biologii molekularnej. W 2012 roku, otworzyła specjalizację z zakresu Laboratoryjnej Genetyki Medycznej na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi.

Habilitantka, jeszcze w czasie studiów zainteresowała się transplantologią, biologią molekularną i immunologią, biorąc czynny udział w badaniach naukowych w ramach Studenckiego Koła Naukowego Immunologii Kardiologicznej i Transplantacyjnej przy Oddziale Chorób Wewnętrznych Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. M. Kopernika w Łodzi pod kierownictwem prof. dr hab. med. Andrzeja Żebrowskiego. Uwieńczeniem tych badań była obrona pracy magisterskiej pt. „Dobór dawcy i biorcy a niektóre zjawiska immunologiczne występujące u ludzi po przeszczepie nerek". Następnie w czasie pracy zawodowej, zakres swoich zainteresowań Kandydatka poszerzyła o hematologię. W trakcie zatrudnienia w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej, Habilitantka w oparciu o materiał kliniczny pozyskiwany w Klinice Hematologii UM w Łodzi realizowała projekt badawczy zamawiany (MNiSW) pt. „Ocena mechanizmów apoptozy komórek białaczkowych u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową leczonych kladrybiną w skojarzeniu z rytuksymabem i innymi lekami przeciwbiałaczkowymi". Wyniki badań uzyskane w trakcie realizacji projektu zaowocowały 5 pracami oryginalnymi, 1 pracą poglądową w języku polskim oraz rozdziałem do książki w języku angielskim na temat wykorzystania techniki mikromacierzy do oceny profilu ekspresji genów u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (PBL). Większość publikacji Kandydatki z zakresu hematologii dotyczy właśnie przewlekłej białaczki limfocytowej. Habilitantka od 5 lat, to jest od czasu zatrudnienia w laboratorium szpitalnym (Pracowni Immunologii Klinicznej, Transplantacyjnej i Genetyki) umiejętnie łączy pracę zawodową z działalnością naukowo-badawczą. Zainteresowania naukowe i stworzony przez Habilitantkę warsztat badawczy przyczyniły się do powstania wielu interesujących prac opublikowanych w czasopismach o wysokim współczynniku wpływu (*impact factor, IF*), które znajdują się na liście filadelfijskiej.

2) Ocena osiągnięcia naukowego zatytułowanego „Wpływ wybranych leków i nanocząsteczek na mechanizm apoptozy w limfocytach białaczkowych przewlekłej białaczki limfocytowej (PBL)"na podstawie cyklu artykułów naukowych

Przedłożone do oceny osiągnięcie naukowe składa się z cyklu 4 prac pełnotekstowych, które zostały opublikowane w czasopismach zagranicznych posiadających IF: Leukemia Research 2012; 36: 1134-1140. (IF - 2,764; MNiSW - 25); Molecular Pharmaceutics 2013, 10: 2490-2501 (IF – 4,787; MNiSW - 45); Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry 2016, 16 (E-pub ahead of print) accepted (DOI:10.2174/1871520616666160622092947) (IF – 2,722; MNiSW - 30) oraz jednego rozdziału w książce "Chronic Lymphocytic Leukemia: Diagnosis, Treatment Options and Prognosis" Nova Science Publishers, INC., New York, U.S.A., ISBN: 978-1-63485-510-5. Łączny IF wyżej wymienionych 5 prac wynosi IF =12,238; punktacja MNiSW = 125. Wszystkie one przedstawiają wysoką wartość naukową, a

ich tematyka jest ściśle związana z wiodącym nurtem badawczym, realizowanym przez Kandydatkę od początku jej działalności naukowej. We wszystkich pracach składających się na osiągnięcie naukowe, Habilitantka jest pierwszym autorem, a swój udział w ich realizacji szacuje od 35% do 90%. Załączone oświadczenia wszystkich współautorów potwierdzają Jej znaczący wkład w prace składające się na osiągnięcie naukowe.

Wyniki zaprezentowane w pracach składających się na osiągnięcie naukowe dotyczą przewlekłej białaczki limfocytowej. Habilitantka do przeprowadzenia badan wykorzystała techniki z zakresu biologii molekularnej: real-time PCR i mikromacierze Q-PCR, uzyskując szereg interesujących wyników o znaczeniu praktycznym, które w przyszłości mogą zostać wykorzystane do skuteczniejszego, zarówno prognozowania przebiegu PBL jak i oceny odpowiedzi na leczenie, być może również do personalizacje terapii, z wykorzystaniem opatentowanych przez Kandydatkę dendrymerów. Badania były przeprowadzone zarówno w warunkach *in vitro* na limfocytach wyizolowanych z krwi chorych, jaki i w warunkach *ex vivo* na komórkach pozyskanych od pacjentów w trakcie leczenia.

W pierwszej publikacji cyklu składającego się na osiągnięcie naukowe (Pharmacological Reports 2012; 64: 412-420) Dr Ida Franiak-Pietryga wykorzystała technikę mikromacierzy do oceny wpływu dwóch leków często stosowanych w leczeniu PBL: kladrybiny (2-CdA) i fludarabiny (FA) na profil ekspresji 93 genów apoptotycznych. Habilitantka wykazała różnice przed i po zastosowaniu w/w leków w ekspresji 27 genów. W przypadku hodowli z 2-CdA zwiększona ekspresja dotyczyła między innymi genów *BAD, TNFRSF21, DAPK1,* natomiast inkubacja z FA zwiększała ekspresję genów *CARD6* i *CARD9*. Różnice dotyczyły też stopnia wyciszenia genów – większe wyciszenie występowało pod wpływem FA i dotyczyło genów *BA, BBC3 i FAS*. Uzyskane wyniki sugerują zarówno różnice w mechanizmie działania obu leków jak i różny wpływ na ekspresję genów apoptotycznych – można sądzić że FA skuteczniej aktywuje wewnętrzny szlak apoptozy, natomiast 2-CdA działa silniej poprzez aktywację zewnętrznego szlaku programowanej śmierci komórki. Kolejna publikacja (Leukemia Research 2012; 36: 1134-1140) poszerza zakres prowadzonych badań o dwa dodatkowe leki: rytuksymab i cyklofosfamid. Habilitantka sprawdziła wpływ dwóch schematów lekowych często stosowanych w leczeniu PBL: RCC i CC na ekspresję genów proapoptotycznych,. Badania wykazały między innymi zwiększenie ekspresji 5 genów proapoptotycznych: *NOXA, RIPK1, CASP10, NFKBIZ* i *ESRRBL1* pod wpływem tego leczenia. Ciekawa obserwacja dotyczy różnicy w ekspresji badanych genów w dwóch grupach pacjentów z mutacją i bez mutacji w genie *IGVH*, a Kandydatka wyodrębniła panele genów charakterystyczne dla w/w dwóch grup chorych. W grupie pacjentów z mutacją, większą aktywność wykazywały geny (*BIRC5, BNIP3L, CARD15, TNFRSF21, FAS*

i *DAPK1)* rodziny receptora TNF, jak również geny inhibitorów NFKB. W grupie chorych bez mutacji *IGVH* największe różnice dotyczył 3 genów: *BAX, CASP4, TNFRSF1A*. Należy podkreślić praktyczny aspekt uzyskanych wyników badań, mogących pomóc w opracowaniu skuteczniejszych, spersonalizowanych schematów terapii chorych na nowotwory.

Trzy kolejne prace z cyklu składającego się na osiągnięcie naukowe dotyczą oceny skuteczności (w warunkach *in vitro)* nanocząsteczek (dendrymerów) w indukowaniu cytotoksyczności oraz procesów apoptozy, co pośrednio pozwoliło ocenić ewentualną możliwości wykorzystania dendrymerów w leczeniu chorych na PBL. Dendrymery opłaszczono maltotriozą w różnych proporcjach: 1) w przypadku PPI-G4-OS-Mal-III ok. 30% i 90% w przypadku PPI-G4-DS-Mal-III, a następnie oceniono zdolność do indukowania apoptozy komórek białaczkowych PBL. W obu stężeniach dendrymery indukowały apoptozę w komórkach białaczkowych nie wpływając na komórki prawidłowe, nie powodowały również hemolizy erytrocytów ani agregacji płytek krwi. Indukcja apoptozy była skuteczniejsza w przypadku 90% PPI-G4-DS-Mal-III. Dodatkowo Habilitantka wykazała korzystny wpływ dendrymerów PPI-G4-OS/DS-Mal-III na zmianę ekspresji genów ze szlaków sygnałowych: BCR, AKT, WNT, NFkB, TNF. Wyniki badań okazały się na tyle interesujące że rozpoczęto przygotowania do badań przedklinicznych pierwszej fazy a badane związki zgłoszono do ochrony patentowej zarówno krajowej jak i międzynarodowej. Odkrycie to znalazło również uznanie w Paryżu, na 112 Międzynarodowych Targach Wynalazczości „Concours Lepine" w 2013roku. Zespół badawczy, którego członkiem była Dr Ida Franiak-Pietryga zdobył wówczas złoty medal.

Podsumowując publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, stwierdzam że uzyskano wiele oryginalnych i ważnych pod względem praktycznym oraz poznawczym wyników dotyczących przewlekłej białaczki limfocytowej. Kandydatka wykazała nieznane dotychczas różnice, w działaniu badanych leków, dotyczące ekspresji genów antyapoptotycznych. Opracowane przez Habilitantkę nanocząsteczki mogą w przyszłości pomóc spersonalizować leczenie PBL.

3) Ocena pozostałego dorobku naukowego

Poza osiągnięciem naukowym Habilitantka jest autorem innych wartościowych publikacji z zakresu hematologii doświadczalnej, biologii molekularnej i immunologii. Większość z nich opublikowano w czasopismach posiadających współczynnik wpływu (*impact factor, IF*), które znajdują się na liście filadelfijskiej. Pozostały poza osiągnięciem naukowym dorobek naukowy obejmuje 20 prac, z czego 13 to publikacje oryginalne

posiadające IF, jedna to praca poglądowa bez IF. Łączny IF w/w prac bez osiągnięcia naukowego wynosi 20.456 a punktacja obliczona według zasad KBN/MNSzW 224,5 punktów. Liczba cytowań wg bazy Web of Science wynosi 117, (wg Scopus 142 cytowania) a Index Hirsha (H index)=6. Impact factor prac w których Kandydatka jest pierwszym autorem wynosi 25,252. Ponadto jest Ona autorką 2 rozdziałów w podręcznikach zagranicznych oraz dwóch zgłoszeń patentowych międzynarodowych (PCT/PL2013/000154 i PCT/PL2013/000163) i trzech krajowych. Habilitantka jest również współautorem 15 doniesień zjazdowych, z czego 8 zaprezentowano na konferencjach międzynarodowych, pozostałe 7 na zjazdach krajowych.

Spośród publikacji Kandydatki, niebędących częścią osiągnięcia naukowego, należy wspomnieć między innymi o pracach dotyczących wpływu różnych statyn oraz hipercholesterolemii typu 2 na błonę komórkową erytrocytów. Ocenę przeprowadzono w warunkach *in vitro* badając wybrane parametry strukturalne błon erytrocytów. Badania wykazały korzystny wpływ statyn na poprawę płynności krwinek czerwonych. U pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną epikatechiny i kwercetyny wpływały na peroksydację lipidów w błonie erytrocytów, takiego działania Habilitantka nie zaobserwowała w przypadku prawastatyny i simwastatyny. W kolejnych badaniach wykazała że atorwastatyna charakteryzuje się najsilniejszym działaniem spośród badanych statyn. W warunkach *in vitro,* stwierdziła wysoką skuteczność hipolipemiczną i antyoksydacyjną flawonoidów. Interesujące są również wyniki badan dotyczące działania różnych leków hipolipemicznych u otyłych kobiet w okresie menopauzy i z zespołem metabolicznym. Wykazały one że trzymiesięczna terapia atorwastatyną kompensuje zaburzenia błony erytrocyta.

Podsumowując, opinie o dorobku naukowym, stwierdzam że wszystkie wymienione wyżej publikacje napisane zostały z szeroką znajomością omawianych zagadnień i wymagały one żmudnej i skrupulatnej pracy badawczej. Miarą wartości w/w prac są między innymi tytuły czasopism naukowych w których zostały opublikowane. Szeroki zakres tematyczny publikacji ma niewątpliwie duży aspekt praktyczny i służy postępowi medycyny.

4) pozostałe osiągnięcia zawodowe

Habilitanka brała udział w realizacji następujących projektów badawczych:

- grant NCN (Opus 2011/01/B/NZ5/01371): „Dendrymery – potencjalne leki w przewlekłej białaczce limfocytowej".
- projekt badawczy zamawiany pt. „POL-POSTDOC III - PBZ/MNiSW/07/2006/28- „Ocena mechanizmów apoptozy komórek białaczkowych u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową leczonych kladrybiną w skojarzeniu z rytuksymabem i innymi lekami przeciwbiałaczkowymi".

W 2015 roku została laureatką „TOP500 Innovators", co pozwoliło na 2 miesięczny pobyt w Uniwersytecie Kalifornijskim w Berkeley, natomiast od września 2016 roku Habilitantka przebywa w ramach stypendium Fulbrighta na Uniwersytecie Kalifornijskim w San Diego, gdzie realizuje własny projekt badawczy. Należy również wymienić współpracę z innymi zagranicznymi ośrodkami naukowymi (Northern University, Boston; Liebniz Polymer Research Institute, Dresden, Germany). W czasie studiów doktoranckich Kandydatka prowadziła zajęcia dydaktyczne z biofizyki ze studentami Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska. Dr Ida Franiak-Pietryga jest członkiem następujących towarzystw naukowych: Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów; Polskie Towarzystwo Genetyki Człowieka Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych; European Research Initiative on CLL (ERIC) Stowarzyszenie TOP500 Innowators; Polsko-Amerykańska Rada Innowacji (PLUS-IP).

Reasumując, wysoko oceniam zarówno osiągnięcie naukowe, jak i dorobek naukowy Kandydatki oraz pozostałą działalność zawodową, które w pełni spełniają kryteria określone w artykule 16, Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, pozycja 595, z późniejszymi zmianami: Dz. U. z 2005 roku nr 164, pozycja 1365; Dz. U. z 2010 roku, nr 96 pozycja 620 i nr 182, pozycja 1228; Dz. U. z 2011 roku nr 84, pozycja 455). Uważam że wyniki badań przedstawione zarówno w osiągnięciu naukowym jak i pozostałych pracach świadczą o dużym zaangażowaniu Dr Idy Franiak-Pietrygi w badania naukowe z zakresu hematologii oraz immunologii. W związku z powyższym, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie Dr Idy Franiak-Pietrygi do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Prof dr hab. med. Jacek Roliński