



Zakład Bioanalityki
UNIwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin
tel. +48 81 448 65 00

prof. dr hab. Emilia Fornal
Zakład Bioanalityki
Wydział Biomedyczny
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Jaczewskiego 8b
20-090 Lublin
Tel. 081 448 65 09
e-mail: emilia.fornal@umlub.pl

Lublin, 20 luty 2024

RECENZJA

OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH DR RENATY B. WAWRZYNIAK
w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk medycznych i o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Podstawą do wykonania niniejszej recenzji jest Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce, z późniejszymi zmianami (Dz.U. 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.) oraz Uchwała nr 69/2023 Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 17 października 2023 r. Ocenę wykonano w oparciu o dokumentację załączoną do wniosku Kandydatki z dnia 22 czerwca 2023 o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Doktor Renata Wawrzyniak jest adiunktem w grupie pracowników badawczo-dydaktycznych w Zakładzie Biofarmacji i Farmakokinetyki Katedry Biofarmacji i Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego od 2017 r. W latach 2013-2017 zajmowała stanowisko asystenta naukowego w tej jednostce. Studia doktoranckie odbyła na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (2010-2013), jednocześnie pracując na stanowisku asystenta w Katedrze i Zakładzie Toksykologii (2011-2013). W czasie studiów doktoranckich odbyła dwa zagraniczne staże naukowe, w Uniwersytecie w Zagrzebiu (2010) i Centrum Metabolomiki i Bioanalizy (CEMBIO) Uniwersytetu San Pablo CEU w Madrycie u prof.

Coral Barbas (2012-2013). Stopień doktora nauk farmaceutycznych uzyskała w 2015 r. na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego na podstawie pracy doktorskiej pt. „Plasma metabolic fingerprinting in pulmonary arterial hypertension by liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometry” pod promotorstwem prof. dr. hab. Michała J. Markuszewskiego i prof. Coral Barbas.

Kandydatka jest współautorką 38 prac naukowych w tym 27 artykułów w czasopismach z *impact faktorem*, sumaryczna wartość IF 111,678. Prace kandydatki były cytowane według bazy *Scopus* 848 razy (bez autocytowań 775), indeks Hirscha 15 (na dzień 20.02.2024). Ponadto habilitantka jest współautorką 51 doniesień konferencyjnych zagranicznych oraz 63 krajowych.

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe pt. „Ocena profili metabolomicznych w zaburzeniach układu sercowo-naczyniowego, schorzeniach onkologicznych i wrodzonych wadach anatomicznych” stanowi cykl sześciu artykułów naukowych opublikowanych w latach 2015-2021 w czasopismach naukowych indeksowanych w bazie *JCR*. Na cykl składa się pięć publikacji oryginalnych oraz jedna praca przeglądowa. Publikacje są powiązane tematycznie. Przedstawione w nich badania stanowią kontynuację kierunku badawczego podjętego przez habilitantkę podczas doktoratu. Dr Wawrzyniak skupiła swoje naukowe zainteresowania na niecelowanym profilowaniu metabolicznym opartym o spektrometrię mas sprzężoną z chromatografią. Włączyła się w obszar badawczy o bardzo dużym znaczeniu poznawczym, aplikacyjnym i klinicznym - poszukiwanie nowych markerów diagnostycznych oraz celów terapeutycznych. Jednocześnie równolegle doskonaliła metody analityczne wykorzystywane do niecelowanych badań metabolicznych. We wszystkich pracach tworzących cykl, przedłożony do recenzji w procedurze o nadanie stopnia doktor habilitowanego, dr Wawrzyniak jest autorką wiodącą - w czterech pracach pierwszą, w dwóch drugą (przy zadeklarowanym równym wkładzie ze współautorami wymienianymi na pozycji pierwszej). W żadnej z tych prac habilitantka nie jest autorką korespondencyjną. Jednakże być może wynika to z obowiązujących w jednostce lub uczelni zasad ustalania udziałów poszczególnych współautorów.

Artykuły naukowe składające się na cykl stanowiący przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe opublikowane zostały w czasopismach o obiegu międzynarodowym *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2015 (Q1), *Journal of Breath Research* 2017 (Q1), *Scientific Reports* 2018 (Q1), *Current Medicinal Chemistry* 2019 (Q1), *Frontiers in Molecular Biosciences* 2020, 2021 (Q1). Sumaryczny IF dla tych prac wynosi 26,212. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że wszystkie publikacje zostały opublikowane w czasopismach z najwyższego kwartyła – Q1 – obejmującego 25% czasopism z najwyższym IF w danej dziedzinie,

co pośrednio wskazuje na wysoki poziom prowadzonych przez habilitantkę prac badawczych. Szczególnie duże zainteresowanie środowiska naukowego wzbudziła praca przeglądowa dotycząca zastosowań metabolomiki w diagnostyce laboratoryjnej (H1), którą cytowano 251 razy oraz praca H3, dotycząca nowej metody przygotowania próbek osocza do niecelowanych analiz metabolicznych, cytowana 42 razy. Można się spodziewać, że oddźwięk prac habilitantki w kolejnych latach będzie wzrastał.

Dr Wawrzyniak w wyniku przeprowadzonych badań literaturowych i prac eksperymentalnych wykazała, że wykorzystanie podejścia metabolomicznego, które łączy czułe techniki analityczne z zaawansowanymi metodami statystycznymi, w tym wielowymiarowymi metodami chemometrycznymi, może dostarczyć nowych, przydatnych i wartościowych rozwiązań do diagnozowania i prognozowania przebiegu chorób. W przeszłości badania biomedyczne i kliniczne opierały się głównie na strategii opartej na monitorowaniu pojedynczych markerów diagnostycznych lub prognostycznych, takich jak gen, białko, metabolit czy enzym. Aby jednak zrozumieć procesy patofizjologiczne w kontekście złożonego przebiegu choroby, niezbędne jest przyjęcie holistycznego podejścia, które pozwala na równoczesne badanie wielu różnych związków. W tym kontekście, metabolomika odgrywa istotną rolę, oferując nowe markery dla wielu chorób, co może przyczynić się do ich wiarygodnego i wczesnego wykrycia, szczególnie w przypadku chorób rozwijających się bez wyraźnych objawów. Jednocześnie habilitantka wskazała na pewne ograniczenia, zauważyła, że zastosowanie metabolomiki ogranicza się nadal często do fazy poszukiwania biomarkerów i podkreśliła wyzwania stojące przed środowiskiem naukowym, aby móc wprowadzić markery do praktyki diagnostycznej. W przypadku większości badań metabolomicznych brakuje walidacji populacyjnej oraz badań międzyśrodkowych. Habilitantka słusznie wskazała, że walidacja, wymagająca celowanego i ilościowego badania metabolitów wyselekcjonowanych w fazie odkrywczej, jest kluczowa dla potwierdzenia skuteczności diagnostycznej i prognostycznej biomarkerów. Powinna ona być przeprowadzana na dużych grupach ludzi, z kontrolą diety i farmakoterapii.

W swojej działalności badawczej habilitantka wykazała, że niecelowane analizy metabolomiczne prowadzone z wykorzystaniem spektrometrii mas sprzężonej z technikami chromatograficznymi mogą być z sukcesem wykorzystywane do identyfikacji biomarkerów i ścieżek metabolicznych, co ma istotne znaczenie dla rozwoju nowoczesnej medycyny. Jej praca stanowi cenny wkład w poszukiwanie nowych, bardziej skutecznych metod diagnozowania i leczenia chorób rzadkich. Dr Wawrzyniak swoją uwagę skupiła na nowotworach

mezenchymalnych podścieliska przewodu pokarmowego (GIST), opornym na farmakoterapię nadciśnieniu tętniczym, wczesnym starzeniu naczyń (EVA) i wrodzonej dysplazji nerek.

Zmiany nowotworowe GIST często pozostają niewykryte przez długi czas, a identyfikuje się je przypadkowo, na przykład podczas endoskopii, badań radiologicznych lub operacji. Diagnostyka GIST opiera się głównie na badaniach obrazowych, takich jak tomografia komputerowa czy rezonans magnetyczny oraz na analizie mikroskopowej próbek guza. Najskuteczniejszą metodą leczenia jest chirurgia, a w terapii farmakologicznej dominują inhibitory kinazy tyrozynowej, z imatynibem jako lekiem pierwszego wyboru. Jednakże, coraz częściej obserwuje się oporność na leczenie i progresję choroby. Celem badań opisanych w publikacji H2 była ocena i porównanie profili metabolomicznych guzów pochodzących z trzech modeli myszy z różnymi mutacjami genu KIT. Zaobserwowano różnice w profilach metabolomicznych między modelami. Habilitantka wykazała, że różne mutacje genu KIT w modelach mysich odzwierciedlają się w profilach metabolomicznych guza, pozwoliło jej to zidentyfikować szlaki metaboliczne zaburzone w przypadku poszczególnych mutacji. Poczynione obserwacje mogą przyczynić się do rozwoju nowych strategii terapeutycznych GIST, uwzględniających aktywację lub inhibicję enzymów regulujących zmienione szlaki metaboliczne. Było to pierwsze badanie poświęcone charakterystyce zmian metabolicznych w guzach GIST z różnymi mutacjami genu KIT. Wartym podkreślenia jest, że badania habilitantki otwierają drogę dla dalszych prac, między innymi nad oceną zmian metabolicznych w guzach poddanych leczeniu ukierunkowanym na poszukiwanie markerów prognostycznych.

Na nadciśnienie tętnicze cierpi około co trzeci dorosły, u co dziesiątego pacjenta poddawanego leczeniu obserwuje się oporność na standardową farmakoterapię, zwane opornym nadciśnieniem tętniczym. U tych osób ciśnienie krwi utrzymuje się na wysokim poziomie mimo przyjmowania co najmniej trzech leków przeciwnadciśnieniowych, w tym diuretyku, w optymalnych dawkach. Niekontrolowane nadciśnienie jest głównym czynnikiem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, takich jak choroba wieńcowa, udar mózgu czy niewydolność serca, a ryzyko związane z chorobami serca u osób z opornym nadciśnieniem jest o pięćdziesiąt procent wyższe niż u osób z kontrolowanym nadciśnieniem. W publikacji H4 dr Wawrzyńska przedstawiła wyniki badań nad różnicami w profilach metabolomicznych osocza pacjentów z opornym nadciśnieniem i pacjentów z kontrolowanym nadciśnieniem. Habilitantka wykazała różnice w metabolizmie lipidów, aminokwasów i puryn. Stwierdziła, że zmiany te związane są z dysfunkcją śródbłonna, zwężeniem naczyń, proliferacją komórek, stresem

oksydacyjnym i stanem zapalnym. Badanie to było jednym z pierwszych badań tego rodzaju, oferującym nowe spojrzenie na mechanizmy stojące za opornym nadciśnieniem.

Badania dr Wawrzyniak nad kolejnym rzadkim schorzeniem kardiologicznym, wczesnym starzeniem naczyń rzucają światło na przyspieszony proces starzenia naczyń, który nie jest bezpośrednio powiązany z wiekiem biologicznym pacjenta. EVA może być diagnozowane nawet u bardzo młodych osób, u których nie stwierdza się podwyższonej szybkości fali tętna tętnicy szyjnej i udowej, parametru powszechnie stosowanego w praktyce klinicznej do oceny sztywności tętnic. Zwiększona szybkość fali tętna jest niezależnym i silnym predyktorem chorób sercowo-naczyniowych. Wskazuje to na pilną konieczność poszukiwania alternatywnego markera do wczesnej identyfikacji pacjentów z zwiększonym ryzykiem powikłań sercowo-naczyniowych wynikających z nadciśnienia powiązanego z EVA. W ramach przeprowadzonych badań, przedstawionych w publikacji H5, habilitantka dokonała oceny profili metabolicznych osocza pacjentów z nadciśnieniem, zarówno z EVA, jak i bez tej dolegliwości. Stwierdziła znaczące obniżenie poziomów czterech lizofosfatydylocholin LPC (16:0), LPC (18:0), LPC (18:1) oraz LPC (18:2) u pacjentów z EVA. Związki te po zwalidowaniu mogą znaleźć zastosowanie jako predyktory EVA u osób z nadciśnieniem tętniczym.

W ramach pracy habilitacyjnej kandydatka przeprowadziła także badania nad wrodzoną dysplazją nerek u dzieci, oznaczenia metaboliczne wykonano dla próbek moczu. Dysplazja nerek, będąca poważną wrodzoną wadą mięszu nerki, często prowadzi do niewydolności nerek już w dzieciństwie lub na wczesnym etapie dorosłości. Diagnostyka tego schorzenia opiera się głównie na badaniach ultrasonograficznych przeprowadzanych przed lub po narodzinach dziecka, przy czym choroba ta nie manifestuje się żadnymi specyficznymi objawami klinicznymi przed rozwojem przewlekłej choroby nerek. Z tego względu, wczesne rozpoznanie dysplazji nerek ma kluczowe znaczenie dla szybkiego wdrożenia terapii ochronnej nerek i może przyczynić się do lepszego długoterminowego rokowania. W wyniku przeprowadzonych niecelowanych profilowań metabolicznych wykryto dziewiętnaście metabolitów, których stężenie w moczu dzieci z dysplastycznymi nerkami różniła się od stężenia obserwowanego w moczu dzieci zdrowych. Stwierdzono obniżone poziomy siedmiu acylokarnityn, ksantyny i glutaminy u pacjentów z dysplazją nerek w porównaniu z grupą kontrolną oraz podwyższone poziomy dimetyloguanozyny, kwasu treonowego oraz kwasu glicerynowego. Metabolity te są powiązane z procesami biochemicznymi takimi jak utlenianie kwasów tłuszczowych, metabolizm aminokwasów oraz puryn. Wyniki badań dostarczyły nowych informacji, które mogą wspomóc

ustalenie patofizjologii dysplazji nerek oraz wskazują na potencjalne cele terapeutyczne dla tej choroby.

W każdym z opisanych powyżej przypadków, dokonane przez habilitantkę odkrycia – zidentyfikowanie metabolitów różnicujących – otwierają potencjalne nowe perspektywy dla wczesnej diagnostyki i szybkiego podjęcia leczenia, wskazują nowe ścieżki dla dalszych badań, mających na celu opracowanie nowych celów terapeutycznych i/lub spersonalizowanych strategii terapeutycznych, poprawę rokowań w leczeniu oraz jakości życia pacjentów. Uzyskane przez habilitantkę wyniki badań mają, na obecnym etapie, wyłącznie wymiar poznawczy. Jednakże badania odkrywcze (ang. *discovery*) – niecelowana metabolomika – są niezbędnym etapem, zapewniającym identyfikację potencjalnych celi metabolicznych do dalszych pogłębionych studiów. Dalsze prace będą wymagały w pierwszej kolejności walidacji celi na dużych grupach pacjentów, pomiarów wielośrodkowych, z zastosowaniem technik celowanych i pomiarów ilościowych.

Badaczka w swoich pracach podkreśliła ponadto znaczenie standaryzacji procedur do przygotowaniu próbek i analiz, co jest kluczowe dla zapewnienia wiarygodności i porównywalności wyników badań metabolicznych. Szczególnie mocno zaakcentowała konieczność optymalizacji metod przygotowania próbek poświęcając temu zagadnieniu pracę H3. Uwagę swoją skupiła na matrycy najczęściej wykorzystywanej w ocenie stanu zdrowia, zaproponowała nową procedurę przygotowania próbek osocza do analiz metabolicznych. Zastosowanie proteiny K znacząco wpłynęło na poprawę efektywności analiz. Białka osocza, w tym albumina i lipoproteiny, odgrywają kluczową rolę w transporcie metabolitów hydrofobowych, pełniąc funkcję nośników dla hormonów, kwasów tłuszczowych, lipidów oraz wiążąc substancje toksyczne i leki. Tradycyjne metody przygotowania próbek, polegające na wytrącaniu białek za pomocą rozpuszczalników organicznych, często prowadzą do niepożądanego strącania wraz z białkami związanymi z nimi metabolitów, co ogranicza zakres oznaczanych substancji. Dodatek enzymu spowodował uwolnienie metabolitów związanych z białkami. Zastosowanie tej metody pozwoliło na znaczące zwiększenie liczby identyfikowalnych metabolitów, w tym lipidów, hormonów, kwasów tłuszczowych, kwasów żółciowych i aminokwasów aromatycznych, co znacząco poszerza możliwości badawcze w zakresie badań nad metabolomem. Dzięki pełniejszemu pokryciu metabolomu możliwe jest lepsze zrozumienie procesów anabolicznych i katabolicznych w komórkach, co ma kluczowe znaczenie dla badania patogenezы różnych stanów chorobowych, w tym chorób nowotworowych i sercowo-naczyniowych, które są w kręgu zainteresowań kandydatki. Zaproponowane podejście, dzięki

swojej prostocie i skuteczności, zyskało zainteresowanie środowiska naukowego, co znajduje potwierdzenie w liczbie cytowań publikacji.

Działalność naukowa habilitantki wnosi wkład w rozwój metabolomiki oraz może przyczynić się do rozwoju nowych narzędzi diagnostycznych i terapeutycznych. Metabolomika niewątpliwie obecnie przyczynia się do przełomu w diagnostyce laboratoryjnej i medycynie translacyjnej, oferując wgląd w molekularne podstawy chorób, które wcześniej były niedostępne. Habilitantka poprzez swoje badania, znacząco przyczyniła się do udoskonalania technologii metabolomicznych oraz zrozumienia złożonych procesów metabolicznych stojących za rzadkimi schorzeniami patofizjologicznymi, nowotworami podścieliska przewodu pokarmowego, opornym nadciśnieniem tętniczym, wczesnym starzeniem naczyń oraz dysplazją nerek. Za szczególnie wartościowe i cenne z perspektywy wpływu badań habilitantki na rozwój nauk medycznych i o zdrowiu w obszarze nauk farmaceutycznych uważam kompleksowe podejście do wyzwań związanych z metabolicznym profilowaniem, podjęcie aspektów analitycznych, bioinformatycznych, klinicznych, translacyjnych prowadzących do identyfikacji potencjalnych markerów i celów terapeutycznych. W pełni zgadzam się ze zdaniem habilitantki, że rezultaty z jej badań i wnioski z nich płynące mogą zostać wykorzystane i wpisują się w kierunki badawcze oceny wczesnych, specyficznych i czułych wskaźników diagnostycznych rzadkich schorzeń patofizjologicznych o niewyjaśnionym patomechanizmie, a często rozwijających się bezobjawowo; badania odpowiedzi metabolicznej na zastosowaną farmakoterapię; oceny metabolicznych przyczyn oporności na leczenie i poszukiwanie kierunków dla rozwoju nowych strategii terapeutycznych. W mojej opinii habilitantka wniosła znaczący wkład w rozwój nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne. Opracowała nową metodę przygotowania próbek osocza do analiz metabolicznych, umożliwiającą lepsze pokrycie metabolomu w wyniku uwolnienia hydrofobowych metabolitów związanych z białkami poprzez zastosowania proteiny K. Modyfikacja pozwala na pełniejsze (pogłębione) profilowanie metaboliczne, otwierając nowe możliwości dla diagnostyki i badania mechanizmów chorobowych. Dr Wawrzyniak wykazała występowanie u pacjentów z opornym nadciśnieniem tętniczym zmian w metabolizmie lipidów, aminokwasów oraz puryn, co sugeruje ścieżki patofizjologiczne związane z dysfunkcją śródbłonna, stresem oksydacyjnym i stanem zapalnym. Odkrycia te mogą przyczynić się do rozwoju nowych terapii. Badania nad kolejnym rzadkim schorzeniem kardiologicznym, wczesnym starzeniem naczyń dostarczyło dowodów, że obniżone poziomy czterech lizofosfatydylocholin, związki te mogą być mocnym predyktorem tego stanu u pacjentów z nadciśnieniem. Otwiera to nowy kierunek dla rozwoju nowatorskich strategii

diagnostycznych i terapeutycznych. Prace habilitantki nad nowotworami podścieliska przewodu pokarmowego wykazały, że różne mutacje genu KIT wpływają na profil metaboliczny guza. Wyniki wskazały na potrzebę rozwoju spersonalizowanych podejść terapeutycznych, szczególnie w kontekście oporności na leczenie. Kompleksowa analiza metaboliczna moczu u dzieci z dysplazją nerek, pozwoliła zidentyfikować zmiany w metabolitach związanych z utlenianiem kwasów tłuszczowych, metabolizmem aminokwasów i puryn. Wyniki te mogą umożliwić wcześniejszą diagnozę i skuteczniejsze leczenie pacjentów. Dorobek naukowy dr Wawrzyniak jest znaczący, jakościowo i ilościowo, jest adekwatny do etapu kariery naukowej.

Dr Wawrzyniak w uczestniczyła w realizacji projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki oraz Ministerstwo Nauki i Edukacji. Była wykonawczynią w projekcie Sonata BIS oraz kierowała projektem Preludium i Iuventus Plus. Na szczególne podkreślenie i wyróżnienie zasługuje naukowa mobilność habilitantki, świadcząca między innymi o dużej otwartości habilitantki na nowe wyzwania. Badaczka realizowała prace naukowe w Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Centrum Metabolomiki i Bioanalizy (CEMBIO) Uniwersytetu San Pablo w Madrycie oraz Gdńskim Uniwersytecie Medycznym.

Podsumowując, oceniam dorobek naukowy dr Renaty Wawrzyniak jako spełniający wymogi określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 późn. zm.). Wobec powyższego wnioskuje do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o nadanie dr Renacie B. Wawrzyniak stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Recenzję sporządzono w oparciu i w zgodzie z zapisami Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce kierując się rekomendacjami Rady Doskonałości Naukowej dotyczącymi recenzji w postępowaniach o awans naukowy i dobrych praktyk w procedurach recenzyjnych w nauce oraz kodeksem etyki pracownika naukowego.

