

## Recenzja

Osiągnięcia naukowego oraz innego dorobku naukowego a także dorobku dydaktycznego i organizacyjnego dr n. med. Barbary Anny Kutryb-Zajęc w związku z Jej wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne.

Opinia została przygotowana stosownie do wytycznych Rady Nauk Medycznych GUMed.

### 1. Dr n. med. Barbara Anna Kutryb-Zajęc:

a) uzyskała stopień doktora nauk medycznych, dyscyplina: biologia medyczna, specjalność biochemia w roku 2017. Stopień ten nadała Rada Wydziału Lekarskiego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

b) nie ubiegała się dotychczas o nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego.

c) ukończyła studia na Wydziale Farmaceutycznym (kierunek analityka medyczna) uzyskując tytuł magistra analityki medycznej. Następnie ukończyła, w roku 2017, studia doktoranckie na Wydziale Lekarskim macierzystego Uniwersytetu. W roku 2016 podjęła pracę na stanowisku młodszego specjalisty w Katedrze i Zakładzie Biochemii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. W roku 2018 uzyskała stanowisko adiunkta w tejże katedrze i na tym stanowisku pracuje nadal.

### 2. Podstawa prawna: Ustawa Prawo Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018.

### 3. Informacja o dorobku naukowym:

a) tytuł osiągnięcia naukowego: Deaminaza adenozyiny w patologiach przebiegających z dysfunkcją śródbłonna naczyniowego.

b) dane naukometryczne:

Dorobek przed uzyskaniem stopnia doktora nauk: 12 prac pełnotekstowych, IF 25,096; punkty MNiSW 260.

Dorobek po uzyskaniu stopnia doktora nauk bez prac w cyklu „Osiągnięcie”: 11 prac pełnotekstowych, IF 33,923, Punkty MNiSW 500. Publikacje wchodzące w skład cyklu „Osiągnięcie naukowe”: 4 prace, IF 11,125, punkty MNiSW 205.

IF całego dorobku 70,144.

Liczba cytowań bez autocytowań wg Web of Science – 103

Liczba cytowań z autocytowaniami - 140

Indeks Hirscha 7

- c) informacja o czasopismach: Wszystkie prace, które ukazały się po uzyskaniu stopnia doktora nauk opublikowano w czasopismach międzynarodowych posiadających IF. W przypadku niektórych prac IF czasopisma wynosił powyżej 5.
- d) informacja o roli kandydata w pracach współautorskich: Miejsce Kandydatki wśród współautorów prac świadczy, że odgrywała ona bardzo ważną, lub też kluczową rolę w powstaniu tych publikacji.
- e) Ocena „Osiągnięcia naukowego”.

Jak wspomniano wyżej, na „Osiągnięcie” składają się cztery publikacje w czasopismach posiadających IF. Łączne IF tych publikacji wynosi 11.125 zaś liczba punktów MNiSW wynosi 205. Na podkreślenie zasługuje fakt, że dwie z tych prac opublikowano w czasopismach o IF powyżej cztery. Tematyka prac jest zwarta i wchodzi w zakres tytułu osiągnięcia. W każdej z prac Kandydatka jest pierwszym autorem. Celem ocenianego cyklu prac było: (a) zbadanie źródeł deaminazy adenozyiny (ADA) w patologich związanych z dysfunkcją śródbłnka naczyniowego, (b) identyfikacja mechanizmów zmian aktywności ADA w komórkach śródbłnka, (c) ocena potencjału terapeutycznego hamowania ADA w eksperymentalnych modelach dysfunkcji śródbłnka.

Praca nr 1 nosi tytuł: „Adenosine deaminase inhibition supresses progession of 4T1 murine breast cancer by adenosine receptor dependent mechanisms”. Pracę opublikowano w J Cell Mol Med 2018, 22, 5939-5954.(IF 4.658), liczba punktów KBN/MNiSW 35) Doświadczenia wykonano na modelu raka piersi u myszy a także na linii komórkowej ludzkiego raka piersi oraz ludzkich komórek śródbłónka aorty. Aktywność enzymu hamowano przy użyciu preparatu o nazwie deoksykoformycyna. Zastosowano szereg zróżnicowanych technik badawczych. Uzyskane wyniki przedstawiono na siedmiu złożonych rycinach i w dwóch tabelach. Wykazano m.in, że głównym źródłem izoenzymu 1 deaminazy adenozyiny (ADA1) w tkance nowotworowej, zarówno u myszy jak też w linii ludzkiego raka piersi są monocyty, makrofagi oraz komórki śródbłónka. Komórki nowotworowe dostarczają jedynie niewielką ilość tego enzymu. Stwierdzono, że hamowanie aktywności ADA zmniejszało rozrost guza u myszy a także migrację i inwazyjność komórek nowotworowych oraz ich transmigrację przez warstwę komórek śródbłónka.

Uważam, że jest to fundamentalna praca o roli deaminazy adenozyiny w procesie rozwoju raka piersi. Uzyskane wyniki posiadają też potencjalne znaczenie praktyczne. Wskazują one, że hamowanie aktywności ADA może znaleźć zastosowanie we wspomaganiu leczenia przynajmniej tego raka. Zwraca uwagę duża liczba współautorów pracy. Uwaga ta dotyczy również pracy nr 3). Jednakże zastosowanie różnych technik badawczych, współpraca z innymi ośrodkami, liczba i jakość uzyskanych wyników a także przygotowanie pracy do druku wymagało pracy dużego zespołu.

Praca nr 2 jest zatytułowana: „Vascular extracellular metabolism in mice correlated with susceptibility to atherosclerosis”. Pracę tą opublikowano w Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids 2018, 37, 653-662 (IF 1.167, MNiSW 15). Jej celem jest zbadanie zależności pomiędzy podatnością na rozwój miażdżycy a aktywnością enzymów biorących udział w zewnątrzkomórkowym metabolizmie nukleotydów (ekto-5' nukleotydyazy) oraz adenozyiny (ekto-deaminazy adenozyiny 1). Doświadczenia przeprowadzono na fragmentach aorty uzyskanych od

sześciu szczepów myszy o różnej podatności (warunkowanej genetycznie) na rozwój miażdżycy. Stwierdzono, że wzrostowi podatności na tą chorobę towarzyszy spadek produkcji adenozyiny oraz wzrost rozkładu tego związku. Prowadzi to do zmniejszenia jego poziomu. Adenozyina wywiera działanie przeciw-miażdżycowe. Uzyskane w niniejszej pracy wyniki wskazują, że spadek poziomu adenozyiny może być jednym z powodów przyspieszonego rozwoju miażdżycy. Jest to ważne spostrzeżenie. Skłania ono do poszukiwania sposobu zmiany niekorzystnej drogi metabolizmu adenozyiny w tym schorzeniu.

Praca nr 3 nosi tytuł: „Inhibition of LPS-stimulated ecto-adenosine deaminase attenuates endothelial cell activation”. (J Mol Cell Cardiol 2019, 128, 62-76; IF 4.133, MNISW 140). Celem pracy było zbadanie pochodzenia oraz mechanizmu wzrostu aktywności deaminazy adenozyiny w zmienionych miażdżycowo tętnicach ludzkich oraz możliwości zastosowania inhibitorów tego enzymu w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych z towarzyszącą dysfunkcją śródbłonna. Jest to bardzo obszerna, kompleksowa praca. Zastosowano w niej bardzo zróżnicowany wachlarz metod badawczych tak biochemicznych i genetycznych jak też metody histologiczne i immunofluorescencyjne. Program doświadczeń jest spójny i doskonale zaplanowany. Badania przeprowadzono na ludzkiej aorticie zstępującej, tętnicy piersiowej wewnętrznej bez nacieków zapalnych oraz tętnicy biodrowej prawej z bardzo zaawansowanymi zmianami miażdżycowymi a także na szczurach i myszach. Przytoczę to tylko niektóre z uzyskanych wyników. I tak, u ludzi stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy aktywnością eADA na powierzchni aorty zstępującej a stężeniem interleukiny 6 (IL-6), triglicerydów cholesterolu, naczyniowych molekuł adhezyjnych ICAM-1, VCAM-1 a także z białkiem wiążącym ADA (CD26). Stwierdzono też pozytywną korelację pomiędzy ekspresją mRNA ADA-1 a ekspresją mRNA tych związków. Badania mikroskopowe wykazały, że źródłem ADA były komórki śródbłonna nie zaś proliferujących mięśni gładkich. W doświadczeniach na szczurach zwierzętom tym podawano lipopolisacharyd (LPS). LPS nie wpłynął na tempo degradacji ATP i AMP. Natomiast zwiększył aktywność eADA1 obecnej na zewnątrz komórek śródbłonna (HAEC). Równocześnie, LPS nie wpłynął na aktywność tego enzymu w

komórkach mięśni gładkich (VSMC). Badanie źródła ADA w tętnicy z zaawansowaną miażdżycą wykazało, że komórki układu immunologicznego są głównym źródłem tego białka. Ludzkie monocyty, makrofagi oraz limfocyty są również znaczącym źródłem ADA. LPS zwiększył ekspresję ADA1 mRNA w ludzkich komórkach śródbłonkowych i w limfocytach i nie wpłynął na ekspresję ADA2 mRNA. U myszy pozbawionych genu IL-6 nie zaobserwowano zmiany konwersji nukleotydów na powierzchni tętnicy piersiowej, lecz odnotowano obniżenie aktywności eADA oraz podwyższenie stężenia adenozyiny we krwi. Celem zbadania mechanizmu zwiększania aktywności ADA w komórkach śródbłonka przez IL-6 zastosowano inhibitory NFκB oraz JAK/STAT. Doświadczenia przeprowadzono na mysich (H5V) komórkach śródbłonka, ponieważ nie posiadają one izoformy ADA2. Aktywność ADA mierzono zarówno w homogenacie komórek jak też na ich powierzchni. Inhibitory NFκB nie zmieniły wzrostu aktywności ani wewnątrzkomórkowej ADA jak też eADA po podaniu LPS. Natomiast zarówno inhibitory kinazy JAK, a także inhibitor białka STAT zmniejszyły aktywność ADA. Zbadano też drogi eksternalizacji ADA. Inhibitory dróg wydzielniczych w siateczce endoplazmatycznej oraz w aparacie Golgiego zmniejszyły stymulowaną przez LPS aktywność eADA na powierzchni komórek H5V. Natomiast aktywatory egzocytozy zwiększały wzrost aktywności eADA. Inhibitor tratw lipidowych całkowicie hamował powodowany przez LPS wzrost aktywności eADA w komórkach śródbłonkowych. W kolejnych doświadczeniach badano wpływ inhibitora ADA (2'-deoksyformycyny, dCF) w aktywowanych przez LPS mysich komórkach śródbłonkowych (linia H5V). dCF hamował całkowicie konwersję zewnątrzkomórkowej adenozyiny do inozyny, lecz nie wpływał na tempo hydrolizy ATP i AMP. dCF zmniejszył też stymulowaną przez LPS produkcję IL-6 i stężenie rozpuszczalnej formy ICAM-1 i VCAM-1 w hodowli tych komórek. Dalej stwierdzono, że za uwalnianie IL-6 jest odpowiedzialny receptor A2b. Badanie przy użyciu immunofluorescencji wykazało, że receptor ten dominuje w śródbłonku aorty zstępującej u ludzi. Autorzy wnioskujeją, że wzrost aktywności ADA w komórkach śródbłonka po aktywacji przez LPS może być następstwem aktywacji drogi IL-6/JAK/STAT natomiast aktywność tego enzymu na powierzchni komórek może być regulowana na szlakach transcytozy, włącznie z zależną od

cholesterolu eksternalizacją enzymu za pośrednictwem traw lipidowych. I wreszcie wnioskuje się, że ekto-deaminaza adenozyiny odgrywa ważną rolę w regulacji aktywacji śródbłonka i rozwoju procesów zapalnych w naczyniach a przeto może być ważnym punktem uchwytu w leczeniu patologii naczyń. Opracowano i zamieszczono w pracy własny model mechanizmu działania LPS.

Praca 4 nosi tytuł: "The effects of pro- and anti-atherosclerotic factors on intracellular nucleotide concentration in murine endothelial cells". Czasopismo: *Nucleosides nucleotides and Nucleic Acids* 2018, 37, 645-652 (IF 1.167 MNiSW 15). Cel pracy dobrze odzwierciedla jej tytuł. Doświadczenia przeprowadzono na mysich komórkach endotelialnych serca (linia H5V). Pro-zapalne związki (IL-6 oraz LPS), kwas moczowy, atorwastatyna i kwas acetylosalicylowy nie wpłynęły na poziom ATP w tych komórkach. Natomiast wysokie stężenie kwasu palmitynowego, kwas oleinowy i kaempferol obniżają poziom badanego związku. Żaden z badanych preparatów nie wpłynął na poziom ADP. Poziom  $\text{NAD}^+$  uległ zwiększeniu przez wielonienasycone kwasy tłuszczowe i atorwastatynę. Inne badane związki nie wywarły wpływu na jego poziom. Wnioskuje się, że zwiększenie poziomu  $\text{NAD}^+$  przez wielonienasycone kwasy tłuszczowe i atorwastatynę może pełnić ważną rolę w zapobieganiu uszkodzeniom śródbłonka.

f) Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych, popularyzatorskich i innych.

Dr n. med. Barbara Anna Kutryb-Zajac:

1. była pierwszym autorem 19 referatów wygłoszonych na sympozjach krajowych i zagranicznych. Była też współautorem 90 opublikowanych streszczeń zjazdowych.
2. odbyła szkolenia i prowadziła współpracę naukową w czterech ośrodkach zagranicznych (Londyn, Leeds, Dusseldorf i Pizza) oraz w Krakowie. Owocem tej współpracy są wspólne publikacje.
3. Jest aktualnie kierownikiem projektu naukowego, w ramach programu Sonata (NCN), jest też wykonawcą w trzech programach: Opus (NCN), Harmonia (NCN) Strategmed NCBiR). Była

kierownikiem projektu w programie Preludium oraz wykonawcą w projektach realizowanych w ramach programu Opus (NCN), TEAM (fundacja na rzecz Nauki Polskiej) oraz Strategmed (NCBiR).

4. Była współorganizatorem dwóch sympozjów, oraz recenzentem w kilku czasopismach międzynarodowych.

g) Prowadzi zajęcia dydaktyczne z biochemii dla studentów II roku kierunku lekarskiego , lekarsko-dentystycznego oraz English Division.

h) Jest współkoordynatorem zespołu „Mikrokrążenie i miażdżyca” w ramach Inicjatywy Doskonałości-Uczelni Badawczej. Wdrożyła i prowadzi w macierzystej Katedrze diagnostykę i monitorowanie leczenia cystynozy w Polsce.

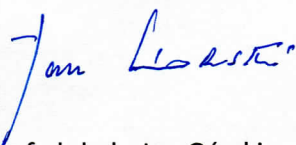
i) Otrzymała szereg nagród i wyróżnień na konferencjach naukowych, szereg nagród naukowych Rektora GUMed-u (w tym nagrodę I stopnia) oraz łącznie 4 nagrody innych organizacji.

Podsumowanie recenzji.

**Jednoznacznie popieram wnioszek o nadanie dr n. med. Barbarze Kutryb-Zajęc stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne.**

Kandydatka legitymuje się znaczącym dorobkiem naukowym. Wszystkie prace opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk ukazały się w czasopismach z IF. Tematyka tego dorobku jest zwarta tematycznie i ogniskuje się głównie wokół roli deaminazy adenozyliny, receptorów purynergicznycch oraz ekto-nukleotydaz w schorzeniach naczyń krwionośnych. Należy dodać, że w okresie do uzyskania stopnia doktora nauk Kandydatka była współautorem 12 publikacji, w większości w czasopismach międzynarodowych. Liczba cytowań nie jest zbyt wysoka, ale prace ukazały się niedawno. Jest, moim zdaniem, tylko kwestią czasu szybki wzrost liczby cytowań i indeksu Hirscha. Cykl prac przedstawionych jako „Osiągnięcie naukowe” składa się z czterech publikacji o łącznym IF 11,125 i liczbie punktów MNiSW 205. Kandydatka jest pierwszym autorem w każdej z tych publikacji. Świadczy to najlepiej o wiodącym wkładzie Kandydatki w powstanie

tych prac. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego dr n. med. Barbary Kutryb-Zajęc posiadają bardzo wysoką wartość naukową. Uzyskano szereg niezmiernie ważnych, oryginalnych wyników poszerzających znacząco naszą wiedzę na temat udziału adenozyiny w funkcjonowaniu śródbłónka jak też mechanizmów rozwoju miażdżycy. Jak już wspomniałem publikacje wchodzące w skład „Osiągnięcia” w pełni wyczerpują wymogi stawiane tej części dorobku naukowego Kandydatki do uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Dr n. med. Barbara Kutryb-Zajęc prowadzi rozległą współpracę naukową z ośrodkami zagranicznymi i krajowymi. Kierowała i kieruje realizacją projektów naukowych oraz jest wykonawcą w innych projektach. Bardzo aktywnie uczestniczy w konferencjach naukowych zagranicznych i krajowych. Uzyskała szereg nagród Rektora, nagród i wyróżnień zjazdowych oraz innych organizacji. Należy podkreślić, że Kandydatka jest osobą młodą a dyplom uzyskała w roku 2013. Uzyskanie tak znacznego dorobku naukowego w stosunkowo krótkim czasie, współpraca z innymi ośrodkami naukowymi, aktywność w prezentacji wyników na licznych konferencjach naukowych i umiejętność przygotowywania wniosków grantowych rokują jak najlepiej na Jej dalszy, szybki rozwój naukowy.



Prof. dr hab. Jan Górski