

Pracownia Farmakologii Komórkowej i Molekularnej
Katedra Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Jaczewskiego 8b
20-090 Lublin

OCENA

osiągnięcia naukowego i dorobku naukowego
oraz działalności dydaktyczno-organizacyjnej
dr nauk medycznych Marty Sidoryk-Węgrzynowicz
w związku z postępowaniem habilitacyjnym
w dziedzinie nauk medycznych
w dyscyplinie biologia medyczna

Niniejsza recenzja powstała zgodnie z wymogami ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późniejszymi zmianami (Dz. U. z 2017 poz. 1789), zwanej dalej Ustawą, w związku z postanowieniem Centralnej Komisji do spraw Stopni i Tytułów z dnia 10 czerwca 2019 r., w sprawie powołania komisji habilitacyjnej w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego Pani dr Marty Sidoryk-Węgrzynowicz. Do oceny posłużyły materiały zawarte na nośniku elektronicznym, przekazane przez Dyrektora Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej (IMDiK) im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk (PAN) w Warszawie.

Sylwetka Habilitantki

Pani dr Marta Sidoryk-Węgrzynowicz ukończyła Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, uzyskując w 2001 r. tytuł magistra biologii, ze specjalnością mikrobiologia. Decyzja o podjęciu studiów doktoranckich w IMDiK im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie niewątpliwie zaważyła na dalszym rozwoju naukowym Habilitantki. Dr Sidoryk-Węgrzynowicz rozpoczęła swą przygodę z neurobiologią w roku 2002, pod opieką Pana Prof. dr hab. Jana Albrechta w Zakładzie Neurotoksykologii. W 2007 r. uzyskała stopień doktora nauk medycznych, ze specjalnością biologia medyczna, na podstawie rozprawy „Ekspresja i funkcje transporterów glutaminy w komórkach nowotworowych pochodzenia glejowego“. W kolejnych latach Habilitantka miała szczęście współpracować ze światową czołówką neurobiologów. Dr Sidoryk-Węgrzynowicz przebywała przez 3 lata na stażu podoktorskim w Division of Pediatric Toxicology, Vanderbilt University Medical Center w Nashville, USA, prowadząc badania naukowe w renomowanym zespole prof. Michaela Aschnera (2008-2011). Po uzyskaniu kolejnego stypendium, dołączyła na 4 lata do grupy prof. Marii Grazii Spillantini w Dept. of Clinical Neurosciences, University of Cambridge, UK (2012-2016). Od 2018 r. jest

zatrudniona na stanowisku adiunkta w Zakładzie Neurochemii IMDiK im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie.

Osiągnięcie naukowe

Przedstawione do oceny osiągnięcie jest cyklem 5 oryginalnych publikacji pt.: „Znaczenie uszkodzeń cyklu glutamina-glutaminian w zaburzeniach integracji astrocytarno-neuronalnej w wybranych stanach patologicznych OUN”, opublikowanych w latach 2009-2017, w cenionych czasopismach naukowych - *J Neurochem* (2), *Glia* (2) oraz *Acta Neuropathol Commun*. Sumaryczny współczynnik oddziaływania **IF=23,392** (MNiSW=150), co jest wartością bardzo wysoką dla tego typu postępowań. Habilitantka jest pierwszym autorem we wszystkich publikacjach. Udział dr Sidoryk-Węgrzynowicz w sformułowaniu hipotez badawczych, zaplanowaniu i realizacji eksperymentów oraz przygotowaniu publikacji, szacowany na 50-65%, jest bez wątpienia znaczący, a potwierdzeniem tego są stosowne oświadczenia współautorów.

Schorzenia układu nerwowego, w tym procesy neurodegeneracyjne, stanowią bardzo poważne wyzwanie terapeutyczne. Mimo znaczącego postępu wiedzy, znajomość mechanizmów leżących u podłoża uszkodzeń neuronalnych jest ciągle niepełna, co znacząco ogranicza możliwości lecznicze. W świetle dostępnych danych, zaburzenia funkcjonowania astrocytów nie są już postrzegane jedynie jako wynik obumierania neuronów. Coraz więcej uwagi poświęca się ich potencjalnej roli w inicjowaniu i podtrzymywaniu patologicznych procesów toczących się w obrębie mózgu. Dlatego też, badania prowadzone przez Habilitantkę należy uznać za celowe i uzasadnione.

Habilitantka wprowadza czytelnika w tematykę swych badań oraz wnikliwie i szczegółowo charakteryzuje uzyskane wyniki na ponad 20 stronach Autoreferatu. Wyczerpujące omówienie zawiera dwa schematy oraz odniesienia do badań prowadzonych przez innych autorów (niemal 50 pozycji piśmiennictwa).

Cykl publikacji jest wynikiem ukierunkowanych zainteresowań badawczych dr Sidoryk-Węgrzynowicz. Od początku swej kariery naukowej uwaga Habilitantki kieruje się w stronę udziału komórek glejowych w patogenezie uszkodzeń neuronalnych. Podstawą osiągnięcia stały się wieloletnie badania nad rolą cyklu glutaminian-glutamina, w tym glejowego transportera glutaminy, w toksyczności manganu (Mn), prowadzone w renomowanych ośrodkach zagranicznych. Uzupełniono je i poszerzono o badania roli astrogleju w tauopatiach.

Badania prowadzono w pierwotnych hodowlach szczurzych komórek glejowych, z wykorzystaniem m.in. łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (rtPCR), Western blotting, analiz wychwyty znakowanej glutaminy czy metod knock-out. Uzyskane wyniki wskazują, iż ekspozycja na Mn selektywnie hamuje ekspresję trzech spośród sześciu badanych glejowych transporterów glutaminy. Najbardziej wrażliwy na działanie Mn był transporter SNAT3, przenoszący glutaminę, asparaginę i histydynę, zarówno na zewnątrz jak i do wewnątrz komórki. Bardzo interesująca są dane wskazujące, że dłuższe narażenie na Mn powoduje zahamowanie ekspresji mRNA dla SNAT3 i nieproporcjonalnie większy (całkowity) zanik białka SNAT3. Habilitantka wraz ze współautorami zasugerowała, że może to być wynikiem post-translacyjnej modyfikacji transportera, najprawdopodobniej związanej z

ubikwitynizacją (Publikacja 1). Logiczną kontynuacją badań była weryfikacja powyższej hipotezy połączona z analizą śródkomórkowych procesów zaangażowanych w działanie Mn. Istotnie, Habilitantka stwierdziła, że Mn aktywuje ekspresję ligazy ubikwityna-białko, Nedd4-2, która degradowuje wiele kanałów błonowych i białek transportowych. Wykazano także istotną rolę kinazy białkowej C (PKC), szczególnie izoformy PKC δ , w łańcuchu zmian prowadzących do zahamowania aktywności SNAT3. Za szczególnie ciekawe należy uznać obserwacje współwystępowania ligazy Nedd4-2 z transporterem SNAT3 oraz stwierdzenie zwiększenia powinowactwa transportera SNAT3 do ligazy Nedd4-2 pod wpływem PKC indukowanej Mn (Publikacje 2 i 3). Dane te wskazują na dotąd niepoznany mechanizm toksycznego działania Mn na komórki astrogleju.

Ścisłe połączenie metabolizmu glejowo-neuronalnego poprzez uwalnianą z astrocytów glutaminę, wychwytywaną następnie przez neurony i przekształcaną do kwasu glutaminowego (GLU) lub, po jego dekarboksylacji, do kwasu γ -aminomasłowego (GABA) jest kluczowym mechanizmem regulującym powstawanie tych fundamentalnych dla czynności mózgu neuroprzekazników, odpowiednio o działaniu pobudzającym i hamującym. W świetle tych danych, logiczną kontynuacją przeprowadzonych badań była ocena obiegu GLU w indukowanych Mn zaburzeniach funkcjonowania układu glutaminianergicznego (Publikacja 4). Istotnie, stwierdzono znaczące, zależne od PKC zmniejszenie wychwyty GLU przez astrocyty poddane działaniu Mn oraz zahamowanie ekspresji białek transporterów GLU – GLAST i GLT1. Rolę izoformy PKC δ w powyższych procesach potwierdzono metodą transfekcji komórek lentiwirusami zawierającymi short hairpin RNA (shRNA) przeciwko izoformom PKC δ i PKC α .

Rozwinięciem powyższych badań jest Publikacja 5, łącząca się z pozostałymi pracami cyklu w sposób nieco mniej oczywisty. Habilitantka postanowiła bowiem ocenić funkcjonowanie cyklu glutamina-glutaminian w astrocytach pochodzących od myszy transgenicznym z mutacją P301S, wywołującą akumulację białka tau i rozwój zmian neurodegeneracyjnych w mózgu zwierząt przypominające chorobę Alzheimera (Publikacja 5). Dr Sidoryk-Węgrzynowicz skutecznie wyprowadziła linie hodowli glejowych i neuronalnych z 7-dniowych myszy transgenicznym, u których nie dochodzi jeszcze do agregacji białka tau. Prowadząc doskonale zaplanowane badania, Habilitantka stwierdziła, że zarówno endogenne jak i rosnące w hodowli astrocyty pochodzące z myszy P301S tau, manifestują zaburzenia fenotypu, analogiczne do aktywacji glejowej, już od wczesnego okresu po narodzinach. Astrocyty cechował wzrost ekspresji GFAP i S100 β oraz spadek ekspresji syntetazy glutaminy oraz transporterów GLU, GLAST i GLT1. Intrygujące było stwierdzenie neurotoksycznego wpływu zarówno samych astrocytów wyprowadzonych z 7-dniowych myszy P301S, jak i medium, w którym rosły, na przeżywalność neuronów. Stwierdzono także zmniejszenie ekspresji neuronalnych białek presynaptycznych i postsynaptycznych pod wpływem astrocytów P301S. Uzyskane wyniki uważam za fascynujące, a nasuwające się wnioski za niezwykle istotne dla badań nad patogenezą zmian neurodegeneracyjnych. Szczególnie interesujące są dane wskazujące, że toksyczne własności astrocytów poprzedzają pojawienie się wewnątrzkomórkowych inkluzji tau, wskazując na istotną rolę gleju w zaburzeniach funkcjonowania układu nerwowego jeszcze przed wystąpieniem neurodegeneracji.

Przedstawiony do oceny, spójny tematycznie cykl publikacji to oryginalne osiągnięcie Habilitantki o bardzo doniosłym znaczeniu poznawczym, bez wątplenia spełniające wszelkie

wymogi Ustawy. Odkrycie nieznanych mechanizmów toksyczności Mn oraz nowych aspektów zaburzeń funkcjonowania układu głąj-neuron w rozwoju uszkodzeń neuronalnych, m.in. w przebiegu choroby Alzheimera, ma charakter *novum* i stanowi istotny wkład dr Sidoryk-Węgrzynowicz w rozwój biologii medycznej.

Pozostały dorobek naukowy

Dorobek naukowy Habilitantki jest bogaty merytorycznie oraz w ujęciu bibliometrycznym. Obejmuje 29 pozycji piśmiennictwa, w tym 22 publikacje oryginalne, wyłącznie w czasopismach z bazy JCR, o łącznym współczynniku oddziaływania (IF) = 98,318 (wg Web of Science Core Collection z dn. 4.03.2019) oraz 7 publikacji poglądowych, z tego 5 w czasopismach z IF (w sumie 13,756). Łącznie, IF całkowitego dorobku wynosi **112,047**, co przekłada się na 759 punktów KBN/MNiSW. Po wyłączeniu pozycji wchodzących w skład osiągnięcia, sumaryczny **IF** dorobku dr Sidoryk-Węgrzynowicz to **88,655**. Dorobek uzupełniają 4 rozdziały w podręcznikach międzynarodowych i 3 komunikaty ze zjazdów międzynarodowych.

Miarą znaczącego oddźwięku publikacji współautorstwa Habilitantki w środowisku naukowym jest bardzo wysoka, jak na ten etap rozwoju naukowego, liczba **cytowań** wynosząca **1189** oraz **indeks Hirscha** = **17**. Należy podkreślić, że Dr Sidoryk-Węgrzynowicz jest współautorką pracy cytowanej powyżej 100 razy, co stawia Ją w gronie wybitnych polskich naukowców.

W okresie przed doktoratem ukazało się 7 publikacji (6 oryginalnych, 1 przeglądowa) współautorstwa dr Sidoryk-Węgrzynowicz, z tego 6 w czasopismach z IF (od 1,898 do 4,814), wynoszącym w sumie **16,411** wg wyliczeń recenzenta (sumaryczny IF tych prac nie wynosi 30,14, jak podano omyłkowo w załączniku 6, p.IVb). Po uzyskaniu stopnia doktora, dorobek powiększył się znacząco. Powstały 22 publikacje (16 oryginalnych, 6 poglądowych), opublikowane w cenionych czasopismach o wysokim IF, m.in. w *Mol Psychiatry*, *Glia*, *Toxicol Sci*, *J Neurochem* czy *J Biol Chem*, w sumie **95,526** (ponownie wg wyliczeń recenzenta). W ujęciu bibliometrycznym jest to więc doskonały wynik.

Merytorycznie, w dorobku Habilitantki na szczególną uwagę zasługują badania z zakresu neurotoksykologii, poświęcone przede wszystkim ocenie wpływu manganu i metylortęci na funkcjonowanie układu nerwowego, będące efektem pobytu dr Sidoryk-Węgrzynowicz w zespole prof. Aschnera. Ujawnienie nieznanego dotąd mechanizmu neuroprotekcynego działania estradiolu w modelu toksyczności wywołanej Mn oraz poszukiwania nowych mechanizmów regulujących transport GLU przez błony komórkowe uważam za znaczące i o potencjalnym znaczeniu praktycznym. Habilitantka stwierdziła w swych badaniach m.in., że indukowane przez Mn upośledzenie astrocytarnego wychwyty GLU jest odwracane przez estradiol oraz tamoksyfen, będący selektywnym modulatorem receptorów estrogenowych (SERM). Obie substancje zwiększały ekspresję transportera GLT-1, w sposób zależny od transformującego czynnika wzrostu (TGF α), co potwierdzono w badaniach na astrocytach transfekowanych przez wyciszające fragmenty RNA (siRNA) (*Glia* 2012;60(7):1024-36). Wykazano także udział powiązanego z białkiem G receptora GPR30 w regulacji ekspresji transportera GLT-1 (*J Biol Chem*. 2012;287(32):26817-28), co może w

przyszłości przełożyć się na poszukiwania nowych leków neuroprotektoryjnych, działających za pośrednictwem receptora GPR30.

Habilitantka ma też w dorobku publikację z dziedziny neurobiologii chorób afektywnych, której przedmiotem była ocena ekspresji genów w korze przedczołowej pochodzącej od pacjentów z depresją (MDD) i nie przyjmujących leków psychotropowych (*Mol Psychiatry* 2011;16(7):751-62). Wśród 60 000 przeanalizowanych produktów genów, ujawniono 30 transkryptów o istotnie zmienionej ekspresji. Stwierdzono m.in. zwiększenie ekspresji czynników hamujących apoptozę oraz wielu cytokin, przede wszystkim działających prozapalnie, w obrębie 10-ego pola Brodmanna, okolicy mózgu o istotnym znaczeniu dla przetwarzania informacji powiązanych z układem nagrody. Wyniki wcześniejszych badań oparte były o analizy prowadzone we krwi obwodowej pacjentów, nie było jednak jasne, czy profil zmian w strukturach mózgu jest zbliżony. Powyższa praca ma charakter pionierski, ujawniając po raz pierwszy wzrost stężenia cytokin prozapalnych w mózgu osób cierpiących na depresję i jest najczęściej cytowaną publikacją w dorobku Habilitantki.

Doświadczenie dydaktyczne, organizacyjne i popularyzujące naukę

Dr Sidoryk-Węgrzynowicz jest pracownikiem instytutu badawczego i nie uczestniczy systematycznie w działalności dydaktycznej. Była opiekunem naukowym 2 magistrantów i 2 doktorantów podczas swego pobytu w Vanderbilt University, USA, oraz doktoranta w University of Cambridge, UK. Habilitantka kierowała 1 projektem finansowanym przez Alzheimer's Research UK network pt.: „Role of astrocytes in tau-related neurodegeneration”, była też głównym wykonawcą projektu „Tau-related cell death and neuroprotection by astrocytes” w latach 2014-2016. Głosiła dwukrotnie referaty na konferencjach międzynarodowych. O uznaniu dr Sidoryk-Węgrzynowicz za eksperta w dziedzinie neurobiologii świadczą zaproszenia do recenzowania publikacji w *Brain Research Bulletin*, *Journal of Neurochemistry*, *NeuroToxicology*, *Journal of Nanotoxicology*, *Food and Chemical Toxicology*, *Neurotoxicology and Teratology* czy *Pharmacological Reports*.

Wniosek końcowy

Z przyjemnością analizowałam przebieg drogi życiowej Pani Dr Sidoryk-Węgrzynowicz. Jest Ona w pełni ukształtowanym i błyskotliwym naukowcem, osobą dedykowaną swej pracy, tworzącą dojrzałe hipotezy badawcze. Przedstawiony do oceny cykl publikacji uważam za istotne oraz oryginalne osiągnięcie Habilitantki, wnoszące ważkie treści w dziedzinę nauk medycznych. Całokształt bogatego merytorycznie, wartościowego dorobku świadczy bez wątpienia o wyśmienitym przygotowaniu Pani dr Marty Sidoryk-Węgrzynowicz do kierowania własną grupą badawczą i do samodzielnej realizacji zamierzeń naukowych.

W oparciu o analizę dostarczonych materiałów stwierdzam, że oryginalne i znaczące dla postępu biologii medycznej osiągnięcie naukowe pt.: „Znaczenie uszkodzeń cyklu glutamina-glutaminian w zaburzeniach integracji astrocytarno-neuronalnej w wybranych stanach patologicznych OUN” oraz pozostały dorobek naukowy i dokonania dydaktyczno-organizacyjne dr n. med. Marty Sidoryk-Węgrzynowicz bez żadnych wątpliwości **spełniają**

wymogi Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017, poz. 1789). Wziąwszy pod uwagę powyższe, **z pełnym przekonaniem i satysfakcją popieram** Wniosek Wysokiej Rady Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej (IMDiK) im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk (PAN) w Warszawie o nadanie dr Marcie Sidoryk-Węgrzynowicz stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie biologia medyczna.

Lublin, 30.09.2019

Prof. dr hab. n. med. Ewa M. Urbańska