



**KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII
I BIOLOGII MOLEKULARNEJ
UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE**

20-093 Lublin, ul. dr W. Chodźki 1
tel. fax 48 814486350

Lublin, 11.11.2019

Recenzja

Dotycząca postępowania habilitacyjnego Pani dr n. med. Agaty Sakowicz w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna na podstawie osiągnięcia naukowego pt.

"NEMO, kluczowy aktywator czynnika transkrypcyjnego NFκB, i jego związek z molekularnym mechanizmem zjawiska preeklampsji"

Informacje o Habilitantce

Dr n. med. Agata Sakowicz jest absolwentką kierunku biologii w zakresie mikrobiologii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego (2001). W 2009 roku została zatrudniona na etacie asystenta w Zakładzie Biotechnologii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, a następnie adiunkta (2010). W 2009 roku uzyskała tytuł doktora nauk medycznych (specjalność biologia medyczna) na podstawie rozprawy doktorskiej, której tematem były: "*Rola wybranych genetycznych czynników ryzyka w chorobach naczyń wieńcowych u pacjentów przed 45 rokiem życia*". W latach 2012-2013 ukończyła studia podyplomowe „Zarządzanie projektem naukowym i komercjalizacja wyników badań”

Doświadczenia zawodowe i naukowe pogłębiła podczas wielu krótkoterminowych staży, szkoleń i warsztatów w kraju.

Pani dr n. med. Agata Sakowicz była kierownikiem grantu NCN (2013/11/D/NZ5/01783, 2014-2018), a obecnie jest kierownikiem jednego (2017/25/B/NZ5/01961,2018) oraz uczestnikiem badań w charakterze wykonawcy dwóch grantów NCN (2014/15/B/NZ5/03495 oraz 2016/21/B/NZ7/0275), co świadczy o umiejętności pozyskiwania funduszy na prowadzone badania.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Działalność dydaktyczna Habilitantki jest obszerna. Prowadzi zajęcia ze studentami kierunku biotechnologii, będąc kierownikiem kilku kursów dydaktycznych – m.in. bloków ćwiczeniowych z przedmiotów „Biologia komórki” oraz „Wprowadzenie do biotechnologii” w języku polskim, jak również ćwiczenia, wykłady lub seminaria z przedmiotów „Quality management in biotechnology”, „Molecular diagnostics”, „Techniques of cytogenetic”, „Legal and economic aspects of biotechnology, Intellectual property management and applications, Quality management systems in biotechnology (GLP, GMP, ISO)” w języku angielskim.

Pani dr Agata Sakowicz była promotorem 5 prac magisterskich i 14 prac licencjackich, jak również opiekunem naukowym 2 projektów realizowanych przez studentów - „Association between -9830T>G TIMP-1 (rs2070584), -418G/C TIMP-2 (rs8179090) and -1296T>C, TIMP3 (rs9619311) polymorphisms and the risk of preeclampsia” oraz „Występowanie zmienności polimorficznych zlokalizowanych w obrębie regionu krytycznego determinującego alternatywny splicing produktu genu Flt1 a ryzyko rozwoju preeklampsji.” realizowanych przez studentów biotechnologii medycznej w ramach projektu „FARM@BIO - zintegrowany system rozwoju kompetencji studentów Wydziału Farmaceutycznego oraz Wydziału Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Była też autorem dwóch opracowań dydaktycznych dla studentów: „Biologia komórki” (ISBN: 978-83-61058-71-1) i „Wprowadzenie do biotechnologii” (ISBN: 978-83-61058-71-1) oraz recenzentem ponad 20 prac licencjackich i magisterskich.

Habilitantka jest również promotorem pomocniczym pracy doktorskiej mgr Michaliny Lisowskiej pt. „Molekularny mechanizm preeklampsji – Rola chromograniny A” - przewod doktorski otwarty na Wydziale Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Pani dr Agata Sakowicz bierze też udział w kształceniu podyplomowym diagnostów laboratoryjnych (z laboratoryjnej genetyki medycznej) oraz lekarzy.

W zakresie działalności organizacyjnej brała udział w ocenie projektów zleconych przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju - programów „*STRATEGMED*”, „*Polish-Norwegian Research Programme*”, „*POIR poddziałanie 1.1.1.*”, czy zleconych przez Ośrodek Przetwarzania Informacji Państwowego Instytutu Badawczego „*Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka 2007-2013, Poddziałanie 1.3.2*”

Na forum międzynarodowym Pani dr n. med. Agata Sakowicz jest recenzentem manuskryptów w szeregu czasopismach międzynarodowych o IF 2-4, co świadczy o tym, że jest rozpoznawana w międzynarodowym środowisku naukowym. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka, Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych oraz Stowarzyszenia International Project Management Association Polska.

Ocena dorobku naukowego

Z analizy dorobku naukowego dr Agaty Sakowicz wynika, że jest Ona autorem lub współautorem 22 publikacji oryginalnych pełnotekstowych z IF, oraz dwóch bez IF, 3 publikacji poglądowych wydanych w czasopismach z IF oraz jednej bez IF. Łączny Impact Factor wszystkich publikacji wynosi 64,093. Łączna punktacja MNIŚW wynosi 664. Liczba cytowań według bazy Web of Science wynosi 235, indeks Hirscha 7.

Dr Agata Sakowicz brała czynny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych prezentując doniesienia ustne oraz plakatowe (18 streszczeń).

Główne zainteresowania badawcze Habilitantki dotyczą czynników genetycznych związanych ze zjawiskami stanu przedzucawkowego oraz zaburzeń kardiologicznych, w tym w okresie ciąży. Początkowo Jej zainteresowania dotyczyły związku pomiędzy nosicielstwem zmienności polimorficznych zlokalizowanych w genach związanych z rozwojem blaszki miażdżycowej oraz procesami krzepnięcia i fibrynolizy a wystąpieniem zawału mięśnia sercowego, co było tematem dysertacji doktorskiej. Duża grupa publikacji dr Agaty Sakowicz obejmuje zagadnienie użyteczności markerów biochemicznych i genetycznych w ocenie ryzyka chorób układu krążenia, w tym między innymi roli diagnostycznej i rokowniczej rozpuszczalnej formy białka ST2 (solubleST2, sST2) jako nowego markera niewydolności mięśnia sercowego oraz stenozы aortalnej w powiązaniu z peptydem natriuretycznym NT-proBNP oraz szeregiem innych parametrów zarówno klinicznych, jak i laboratoryjnych. Wnioskiem z tych badań było stwierdzenie, że „stężenie białka sST2 może być niezależnym markerem rokowniczym pogorszenia się w ciągu roku stanu klinicznego pacjenta w rozumieniu: ponownej hospitalizacji z powodu zaostrzenia choroby niedokrwiennej serca, konieczności zwiększenia dawki leków o działaniu diuretycznym, przyporządkowania ciężkości objawów u pacjenta do kolejnej klasy wg skali NYHA”. W szeregu następnych publikacji Habilitantka sugerowała potencjalną rolę diagnostyczną markerów biochemicznych (m.in. kardiotropiny-1 (CT-1), cystatyny C (CysC), czynnika martwicy nowotworów typu alfa (TNF- α), N-końcowego propeptydu kolagenu typu III (PIIINP), syndekanu-4 (Syn4), białka podobnego do receptora dla interleukiny-1 (II1RL1),

transformującego czynnika wzrostu typu beta (TGF- β), lipokaliny- 2 (LCN2)) i czynników genetycznych (polimorfizmu genów *IL-6*, *CYP27B1*, *NOS3*, *TGF- β* , *TNF- α* , *PPAR γ*) u pacjentów z niewydolnością mięśnia sercowego i częściowo zachowaną frakcją wyrzutową lewej komory, konkludując, że „dopiero strategia oparta o jednoczesną analizę kilku parametrów klinicznych i laboratoryjnych stanowi bardzo dobre narzędzie w ocenie stopnia zajęcia naczyń wieńcowych przez blaszkę miażdżycową.”

Przedmiotem badań Habilitantki była również obecność i rola zmian w genach metaloproteinaz (MMP1/MMP3/MMP9) – badała zależność pomiędzy występowaniem pojedynczych zmian nukleotydowych w obrębie genów kodujących MMPs u matki i jej płodu a rozwojem zjawiska preeklampsji, sugerując że nosicielstwo genotypu 1G/1G *MMP1* przez matkę lub przez płód jest związane z rozwojem stanu przedzucawkowego. Tematyka roli czynników genetycznych w patogenezie preeklampsji została następnie rozwinięta w pracach wchodzących w skład doniesienia naukowego dr Agaty Sakowicz.

Dorobek naukowy dr Agaty Sakowicz uzupełniony jest szeregiem prac o innej lub zbliżonej tematyce, m.in. oceny użyteczności wybranych markerów genetycznych w ocenie ryzyka rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego oraz w aspekcie rozważenia terapii kłopidogrelem w populacji pacjentów z chorobą niedokrwienną serca i kwalifikacji poszczególnych pacjentów do tego typu leczenia, czy też związku czynników angiogennych i genetycznych (obecności mutacji somatycznej genu kinazy tyrozynowej *JAK2*) u pacjentów z chorobami mieloproliferacyjnymi – głównie z czerwienicą prawdziwą lub nadpłytkowością samoistną.

Pani Dr Agata Sakowicz jest laureatem kilku indywidualnych lub zespołowych nagród JM Rektora UM w Łodzi w latach 2010, 2014, i 2016 oraz nagrody Towarzystwa Internistów Polskich I stopnia (2014).

Ocena osiągnięcia naukowego

Prezentowany cykl prac będący osiągnięciem naukowym jest spójny tematycznie, koncentruje się wokół roli genu kodującego białko NEMO (z *ang.* *NF κ B Essential Modulator*) w poznaniu patomechanizmu rozwoju zjawiska stanu przedzucawkowego (preeklampsji, PE) .

Podjęty temat badawczy jest jak najbardziej celowy i oryginalny.

Oceniany cykl publikacji składa się z 4 prac pełnotekstowych o łącznym IF równym 15,817 oraz łącznej punktacji MNiSW równej 150 pkt i zawiera 1 pracę przeglądową oraz 3 prace oryginalne.

W pierwszej z prac cyklu [*Finding NEMO in Preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2016 Apr;214(4):538.e1-538.e7. doi:10.1016/j.ajog.2015.11.002*] Autorka dokonała oceny ekspresji genu *NEMO* w komórkach krwi obwodowej matek, krwi pępowinowej oraz łożyskach pacjentek z PE i w grupie kontrolnej. Na uwagę zasługuje ustalenie jasnych kryteriów włączenia i wykluczenia poszczególnych pacjentek do badania, jak również ocena ekspresji poszczególnych transkryptów *NEMO* (1A/1B/1C). Na podstawie otrzymanych wyników Habilitantka sugeruje, że dwie postaci preeklampsji (późna i wczesna) mogą mieć odmienne podłoże molekularne, oraz że regulacja aktywacji czynnika NFκB aktywacja czynnika NFκB we krwi kobiet i ich dzieci, których ciąża jest powikłana stanem przedzucawkowym, może zachodzić na drodze klasycznej, natomiast w łożyskach kobiet ze stanem przedzucawkowym najprawdopodobniej przebiega na drodze innej niż klasyczna.

W następnej pracy cyklu [*Double hit of NEMO gene in preeclampsia. PLoS One. 2017 Jun 27;12(6):e0180065.*] Pani dr Agata Sakowicz potwierdziła w/w zależności w większej grupie pacjentek, dodatkowo rozszerzając swoje badania o analizę ekspresji genu *NEMO* we krwi pępowinowej dzieci urodzonych z ciąży powikłanej stanem przedzucawkowym, stwierdzając znacząco wyższą ekspresję poszczególnych transkryptów genu *NEMO* (1A, 1B i 1C) u tych dzieci w porównaniu z grupą kontrolną. Dokonała też zsekwencjonowania części egzomowych genu *NEMO* u kobiet ze zdiagnozowanym stanem przedzucawkowym, porównując je z sekwencjami dostępnymi w bazach danych ENSEMBL i Human Genome Browser, czego efektem było wyodrębnienie dwóch wariantów nukleotydowych zlokalizowanych w regionie 3'UTR genu *NEMO*, sugerując, że preeklampsja ma podłoże dziedziczne, oraz że dziedziczenie zjawiska preeklampsji przebiega po linii matczynej. Kontynuując następnie badania *in silico* o charakterze bioinformatycznym wykazała, że obecność allelu T w pozycji 402 regionu 3'UTR genu *NEMO* wpływa na zwiększenie stabilności cząsteczki mRNA, oraz że preeklampsja ma podłoże wielogenowe a wariant IKBKG:c*402C>T może w pewien sposób modulować predyspozycje do jej wystąpienia.

W ostatniej z oryginalnych prac cyklu [*Expression of NEMO Protein in Normal Pregnancy and Preeclampsia. Disease Markers. 2019 Jan 2;2019:8418379. doi:10.1155/2019/8418379*] Habilitantka potwierdziła uzyskane wcześniej zależności ekspresji *NEMO* na poziomie białka, stosując metodę ilościową ELISA oraz półilościową technikę Western-blot. Dokonała też analizy histochemicznej ekspresji *NEMO* u wybranej grupy pacjentek, stwierdzając że białko *NEMO* jest zlokalizowane głównie w warstwie syncytiotrofoblastu kosmków łożyskowych.

Metodyka prac oryginalnych jest właściwa dla tego typu opracowań. Zwraca uwagę połączenie badań o charakterze typowo klinicznym z badaniami o charakterze

doświadczalnym. W tych ostatnich Autorka posługuje się różnorodnymi technikami badawczymi – na poziomie kwasów nukleinowych - qPCR, RLFP-PCR, sekwencjonowaniem DNA oraz na poziomie białek – ELISA, Western-blot, immunohistochemia, wzbogacone analizą bioinformatyczną *in silico*.

Czwarta praca cyklu [*The role of NFκB in the three stages of pregnancy - implantation, maintenance, and labour: a review article. BJOG. 2018 Oct;125(11):1379-1387. doi: 10.1111/1471-0528.15172*] jest jednoautorską publikacją poglądową, wprowadzającą w tematykę zagadnienia. Dlatego też, moim zdaniem, mogłaby być pracą otwierającą cykl. Nie ma to jednak większego znaczenia. Sama publikacja jest wartościowa, gromadzi wiadomości na temat roli czynnika transkrypcyjnego NFκB w indukcji zmian immunologicznych i adaptacyjnych matki i płodu w czasie różnych etapów ciąży, w tym implantacji i utrzymania ciąży. Podnosi też znaczenie zaburzeń w aktywacji i wyciszeniu ekspresji czynnika NFκB, którego aktywność jest wielokrotnie zwiększona w łóżyskach kobiet, których ciąża przebiegała z preeklampsją.

Reasumując, osiągnięcie naukowe "NEMO, kluczowy aktywator czynnika transkrypcyjnego NFκB, i jego związek z molekularnym mechanizmem zjawiska preeklampsji" jest kompilacją trzech oryginalnych prac i pracy poglądowej opublikowanych w czasopiśmie o międzynarodowym zasięgu z IF. We wszystkich publikacjach eksperymentalnych wchodzących w skład osiągnięcia Habilitantka jest pierwszym autorem, w publikacji poglądowej - jedynym. Oryginalność i jakość naukowa omawianych publikacji jest dość wysoka, w każdej z nich dr n. med. Agata Sakowicz była współtwórcą koncepcji i analizy wyników realizowanych badań, których dużą część wykonała samodzielnie. Jest również autorem korespondującym we wszystkich artykułach, co potwierdza jej kluczowy udział w powstaniu i publikacji tych prac. Znajduje to również potwierdzenie w oświadczeniach współautorów poszczególnych publikacji. Swoją procentowy udział w realizacji poszczególnych artykułów, w których jest pierwszym autorem Habilitantka oszacowała na 70%, w pracy poglądowej – na 100% (jedyne autor), co spełnia kryteria stawiane dla tego typu opracowań.

Wnioski końcowe

Podsumowując, pragnę podkreślić, że dorobek naukowy i osiągnięcia habilitacyjne dr n. med. Agaty Sakowicz charakteryzują się wysokim poziomem naukowym i są znaczące. Oryginalne wyniki i zademonstrowany warsztat badawczy są gwarantem dalszego rozwoju naukowego Habilitantki. Dodając do tego kwalifikacje dydaktyczne i organizacyjne, uważam, że dr n. med. Agata Sakowicz spełnia kryteria i wymogi stawiane przed osobą ubiegającą się o tytuł doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, określone Ustawą o stopniach

naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki w aktualnie obowiązującym brzmieniu.

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Pani dr n. med. Agaty Sakowicz do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Stepulak

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'AS', written in a cursive style.