Prof. dr hab. n. farm. Ewa Chabielska

Zakład Biofarmacji

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

ul. Mickiewicza 2C

15-222 Białystok

tel. 085 748 56 07

e-mail: chabewa@poczta.onet.pl

RECENZJA

Dorobku naukowego oraz działalności dydaktyczno-organizacyjnej

dr n. biol. Tomasza Przygodzkiego

ze szczególnym uwzględnieniem cyklu prac stanowiącego podstawę habilitacji

pt.: *„Zmiany w funkcjonowaniu płytek krwi oraz śródbłonka naczyniowego w zwierzęcych modelach cukrzycy – od badań in vitro i ex vivo do badań przyżyciowych”*

Dane osobowe oraz rozwój naukowy i zawodowy

Dr n. biol. Tomasz Przygodzki jest absolwentem Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego. Po uzyskaniu, w 2001 roku tytułu magistra biologii, rozpoczął Studia Doktoranckie w Katedrze Biofizyki Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego, gdzie pod opieką Prof. dr hab. Marii Bryszewskiej, w 2005 roku uzyskał stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biofizyki na podstawie pracy doktorskiej pt.: *„Związek między wewnątrzkomórkowym stężeniem jonów wapnia a produkcją reaktywnych form tlenu i azotu w kardiomiocytach szczura”*. W tym samym roku rozpoczął 2-letni staż podoktorski w Katedrze Biochemii Medycznej i Biofizyki Uniwersytetu w Umeå w Szwecji.

W 2007 roku, jako laureat konkursu Pol-Postdoc Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, rozpoczął pracę w kierowanym przez Prof. Cezarego Watałę Zakładzie Zaburzeń Krzepnięcia Krwi Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, którym pracuje nadal, na etacie naukowo-technicznym.

W latach 2007 - 2018 dr Tomasz Przygodzki był kierownikiem kilku projektów finansowanych z funduszy strukturalnych Unii Europejskiej, MNiSW oraz Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Jako wykonawca realizował 1 projekt NCN i 1 projekt Fundacji na rzecz Nauki Polskiej. Czynny

merytorycznie udział w badaniach, w ramach powyższych projektów, był kluczowy dla sformułowania i realizacji tez badawczych rozprawy habilitacyjnej.

W ramach staży w zagranicznych ośrodkach naukowych (Department of Cell and Animal Biology, Uniwersytet Hebrajski w Jerozolimie oraz Medical Chemistry Department, Weizmann Institute of Science w Rehovot w Izraelu) zdobył wiedzę, którą mógł wykorzystać w pracach nad realizacją kolejnych grantów i opracowywaniem nowych metod badawczych. Wyrazem zaufania ze strony Prof. Cezarego Watały było powierzenie dr Tomaszowi Przygodzkiemu zadania stworzenia pracowni mikroskopowej i opracowania nowoczesnego i unikalnego instrumentarium służącego badaniom funkcji płytek krwi i śródbłonka *in vitro* oraz przyżyciowo w modelach zwierzęcych.

Habilitant sukcesywnie uzupełniał wiedzę poprzez udział w szkoleniach, w kraju i za granicą, z zakresu zastosowania technik mikroprzepływowych, doświadczeń na zwierzętach oraz wykorzystania statystyki w medycynie.

Za osiągnięcia naukowe dr Tomasz Przygodzki był nagrodzony kilkoma nagrodami Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Zespołową Nagrodą Wynalazczą Rektora tegoż Uniwersytetu. Uznania dla wiedzy Habilitanta przez międzynarodowe środowisko naukowe dowodzi też fakt wystąpienia w roli recenzenta projektu badawczego Agence Nationale de la Recherche (Francja) oraz manuskryptów w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

<u>Ocena działalności naukowej z wyłączeniem osiągniecia</u>

Dorobek naukowy dr Tomasza Przygodzkiego obejmuje 22 prace pełnotekstowe, 32 komunikaty zjazdowe, 1 rozdział w książce pt.: *„Only the Truth Would Enlighten Us — The Advantages and Disadvantages of Flow Cytometry as a Method of Choice in the Study of Mouse and Rat Platelets" Flow Cytometry – Select Topics 2016, Wyd. InTech.*

Łączny **IF** prac wynosi **48,354**, punktów wg **MNiSW – 499**, całkowita **liczba cytowań – 167, Indeks Hirscha – 7** (wg Web of Science). Po wydzieleniu 6 prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego IF pozostałych prac 14 prac wynosi **34,063,** a Habilitant jest pierwszym autorem w 4 z tych prac. Wyniki swoich badań Habilitant upowszechniał również kilkukrotnie w formie wykładów na konferencjach krajowych i zagranicznych.

Prace Habilitanta koncentrowały się przede wszystkim na zjawiskach związanych z dysfunkcją śródbłonka naczyniowego i płytek krwi w przebiegu cukrzycy w modelach eksperymentalnych (*in vitro i in vivo*) oraz poszukiwaniu nowych narzędzi farmakologicznej modyfikacji tych zaburzeń.

Zadania badawcze, w które zaangażowany był dr Tomasz Przygodzki, dotyczyły zastosowania 1-metylonikotynamidu, jako związku ograniczającego dysfunkcję śródbłonka naczyniowego w modelach cukrzycy ze szczególnym uwzględnieniem roli, jaką pełni COX-2 w działaniu tego związku. Prace te ukierunkowały dalsze badania Habilitanta, których wyniki włączył do rozprawy habilitacyjnej.

Dr Tomasz Przygodzki był również zaangażowany w wieloletnie badania nad nowymi strategiami regulacji funkcji płytek w cukrzycy, w tym łączonej terapii przeciwpłytkowej agonistami receptorów adenozynowych na płytkach krwi w kombinacji z antagonistami receptora P2Y12. Kolejne badania Habilitanta, wykonane roli koordynatora badań, dotyczyły hamowania aktywacji płytek krwi przez związki polifenolowe pochodzenia roślinnego, posiadające ponadto właściwości rozkurczania naczyń krwionośnych. Habilitant brał także udział w badaniach oceniających rolę potranslacyjnych nieenzymatycznych modyfikacji białek płytkowych w zmianach adhezji płytek krwi do śródbłonka w warunkach hiperglikemii.

Opracowana przez Habilitanta metoda przyżyciowego pomiaru reaktywności płytek krwi z wykorzystaniem laserowej przepływometrii dopplerowskiej została wykorzystana w badaniach zespołu do oceny związków z rodziny polimerów polikationowych jako nośników leków.

Zagadania, które w ostatnich latach szczególnie interesują Habilitanta, dotyczą udoskonalania metod służących ilościowej analizie danych pochodzących z obrazowania mikroskopowego (szerokiego pola i konfokalna), docelowo przeznaczonych do dalszych badań funkcji płytek krwi. Dr Tomasz Przygodzki wykorzystał tę analizę danych w pracach oceniających oddziaływania płytek krwi i leukocytów ze śródbłonkiem naczyniowym w warunkach przepływu *in vitro oraz in vivo* w zwierzęcych modelach dysfunkcji śródbłonka.

Potwierdzeniem wartości nowatorskiej i aplikacyjnej wynikającej z badań Habilitanta jest Jego udział autorski (40% i 10%) w zgłoszeniach patentowych dotyczących: 1) *zastosowania odtłuszczonego ekstraktu z wychmielin do leczenia lub profilaktyki cukrzycy oraz środek farmaceutyczny do takiego zastosowania (2017)* oraz 2) *przygotowania i zastosowania preparatu polifenolowego (2015).*

Reasumując, dorobek naukowy wskazuje na systematyczny i dynamiczny rozwój Habilitanta zaś wyniki badań, w których uczestniczył, opublikowano w czasopismach o ustalonej pozycji i zasięgu międzynarodowym. Na podkreślenie zasługuje kluczowy udziału dr Tomasza Przygodzkiego w tworzenie zaawansowanego warsztatu badawczego macierzystej jednostki. **Pod względem formalnym dr Tomasz Przygodzki spełnia wymagania obowiązującej w tym względzie ustawy o tytułach i stopniach naukowych.**

<u>Ocena osiągniecia naukowego będącego przedmiotem rozprawy habilitacyjnej</u>

Szczególne osiągniecie naukowe tworzy cykl **6 prac oryginalnych** pt: *„Zmiany w funkcjonowaniu płytek krwi oraz śródbłonka naczyniowego w zwierzęcych modelach cukrzycy – od badań in vitro i ex vivo do badań przyżyciowych”,* opublikowanych w latach 2010-2018 i opatrzonych komentarzem. Prace ukazały się w prestiżowych, anglojęzycznych czasopismach listy filadelfijskiej

(Eur J Pharmacol, J Physiol Biochem, Plateles, PLoS One), a ich sumaryczny współczynnik **IF wynosi 14,291** zaś **punktacja wg MNiSW – 157**.

Pozycja pierwszego autora i autora korespondencyjnego wszystkich artykułów tworzących osiągniecie oraz udział szacowany na 40%-80% dowodzi kluczowej roli Habilitanta w ich powstanie.

Cukrzyca oraz jej powikłania stanowią jedną z pięciu najczęstszych przyczyn zgonów w krajach rozwiniętych oraz jedną z głównych przyczyn niewydolności nerek, zawału serca i udaru mózgu. W cukrzycy dochodzi do uszkodzenia śródbłonka i upośledzenia jego funkcji, nasilenia stresu oksydacyjnego i procesu zapalnego, wzrostu aktywacji płytek i układu krzepnięcia, osłabienia fibrynolizy i zaburzeń regulacji napięcia naczyń, a więc do zmian, które zwiększają potencjał prokoagulacyjny organizmu predysponując do rozwoju zakrzepicy. Przedstawione w osiągnieciu, przedkliniczne badania Habilitanta, dotyczą badań patogenezy cukrzycy w modelach zwierzęcych, ze szczególnym uwzględnieniem funkcji śródbłonka naczyniowego i płytek krwi, ich wzajemnych interakcji w trakcie progresji choroby oraz możliwości poprawy ich funkcji uznanymi oraz nowymi narzędziami farmakologicznymi.

Do ważnych obserwacji, które Habilitant przedstawił w osiągnięciu, zaliczam:

- ✓ Wykazanie po raz pierwszy, że MNA, fizjologicznie występujący metabolit nikotynamidu **(1, 2)** podawany chronicznie *per os* zwiększa syntezę PGI2 w modelu chemicznie indukowanej streptozotocyną (STZ) cukrzycy u szczurów (obserwacja 12-tygodniowa), a efekt ten był zależny był od stopnia zaawansowania cukrzycy. Habilitant zauważył rozbieżność czasową miedzy najsilniejszym działaniem pro-prostacykliniowym i profibrynolitycznym MNA, co wskazuje na szersze niż zakładano, mechanizmy profibrynolitycznego działania związku. Autor nie potwierdził też przeciwzapalnego działania MNA w użytym modelu eksperymentalnym, zaś wzrost przeżywalności zwierząt w tym modelu, nie był związany z kontrolą glikemii, lecz prawdopodobnie z pro- prostacykliniwym działaniem MNA. Wyniki badań Habilitanta wskazują na konieczność dalszego poszukiwania mechanizmów działania MNA, także na poziomie komórkowym, biorąc pod uwagę fakt różnego działania związku w użytych układach badawczych np. brak wpływu na uwalnianie PGI2 i PGE2 *in vitro w* komórkach śródbłonka żyły pępowinowej ze zwiększoną ekspresją COX-2, czy obecną tylko dla jego metabolitu (N-metylo-2-pyridono-5-karboksyamidu) i mediowaną przez COX aktywność naczyniorozkurczajacą w naczyniach wieńcowych szczura. Wyniki te sugerują, że efekt MNA podawanego systemowo może zależeć od jego metabolitu.

- ✓ Wykazanie w mysim modelu cukrzycy db/db (*myszy homozygotyczne pod względem mutacji punktowej w genie receptora leptyny (BKS.Cg- Dock7<m>+/+Lepr<db>/J)* istotnego udziału COX-2 w

kompensacyjnej odpowiedzi naczyniorozszerzającej w naczyniach wieńcowych. Opisane efekty były związane z zależną od COX-2 syntezą PGE_2 i receptorem prostacyklinowym (IP). Należy podkreślić, że jest to pierwsze doniesienie wskazujące, iż rozkurcz naczyń wieńcowych mediowany przez receptor IP jest osłabiony u myszy db/db. Habilitant nie potwierdził natomiast udziału COX-2 w kompensacyjnej regulacji napięcia naczyń wieńcowych w modelu 8 tygodniowej cukrzycy STZ u szczura **(3,4).** O wartości powyższych badań, poza określeniem roli COX-2 w patologii naczyń w warunkach hiperglikemii, decyduje także wykazanie różnic między użytymi modelami cukrzycy, które szczególnie w przypadku chemicznie indukowanej cukrzycy mogą być zależne od wielu zmiennych. Uzyskane wyniki są także kolejnym głosem w dyskusji o roli, jaką COX-2 pełni w regulacji funkcji naczyń krwionośnych w warunkach zaburzonej funkcji śródbłonka oraz bezpieczeństwie stosowania inhibitorów COX.

- ✓ Wykazanie, po raz pierwszy, zależnej receptorów GPIb-IX-V, zwiększonej adhezji płytek krwi do prezentującego fenotyp prozapalny śródbłonka naczyń krezkowych myszy z 1-miesięczną cukrzycą **indukowaną** STZ **(5).** Badanie, które wykonano *in vivo* w warunkach przepływu stosując metodę mikroskopii przyżyciowej, dowiodło, że w procesie przylegania płytek istotną rolę pełni zwiększona ekspresja vWF w komórkach śródbłonka.

- ✓ Modyfikację metody przyżyciowej oceny reaktywności płytek krwi w zwierzęcym modelu *in vivo* **(6).** Habilitant zaproponował pomiar stopnia zamknięcia agregatami płytkowymi naczynia krezkowego za pomocą pomiaru przepływu dopplerowskiego metodą laserową (modyfikacja w stosunku do pomiaru radioizotopowego agregatów płytkowych w naczyniach płucnych). Dowiódł, iż pozwala to na równoważną, w stosunku do metody oryginalnej, ocenę reaktywności płytek krwi. Włączenie do osiągniecia tych wyników dowodzi, że Habilitant poza głównym nurtem zainteresowań, dotyczącym patologii hemostazy i układu krążenia w cukrzycy, nieustannie pracuje nad doskonaleniem instrumentarium.

Podsumowując, po zapoznaniu się z publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego stwierdzam, iż przedstawiona rozprawa habilitacyjna wnosi wkład w rozwój nauk medycznych, a jej wyniki, w części nowatorskie, znajdują potencjalne odniesienie do praktyki klinicznej w aspekcie wskazania nowych możliwości interwencji farmakologicznych przywracających funkcję śródbłonka i płytek w przebiegu cukrzycy. Pragnę podkreślić, iż prace Habilitanta **(1,3,4,5),** charakteryzujące powszechnie stosowane laboratoryjne modele cukrzycy 1 i 2 typu, mają także dużą wartość metodologiczną. Szeroka charakterystyka w/w modeli jest nie do przecenienia w odniesieniu do rzetelnych analiz porównawczych wyników uzyskanych w różnych laboratoriach.

Ocena działalności dydaktyczno-organizacyjnej

Dr Tomasz Przygodzki, jako pracownik naukowo-techniczny, nie jest zobligowany do pracy dydaktycznej. Zaangażował się natomiast, w rolę promotora pomocniczego realizowanej w macierzystej jednostce rozprawy doktorskiej pt.*: „Zmiany ekspresji i aktywności COX-2 w warunkach hiperglikemii oraz mechanizmy regulacji wazomotoryki naczyń wieńcowych w zwierzęcych modelach cukrzycy”*. Aktywność organizacyjna Habilitanta na rzecz środowiska naukowego i macierzystej jednostki w ostatnich latach polegała na współorganizacji konferencji podsumowującej realizowany przez zespół projekt badawczy oraz zasiadaniu w jury konferencji *Juvenes Pro Medicina*.

Wniosek końcowy

Kierując się wartością naukową prac, dynamicznym rozwojem naukowym oraz umiejętnością prowadzenia wieloletniej współpracy z zespołami innych ośrodków uważam, że dr n. biol. Tomasz Przygodzki zasługuje na przyznanie Jego osobie statusu samodzielnego pracownika naukowego. W związku z powyższym wnioskuję o kontynuację postępowania habilitacyjnego.