

# OCENA CAŁOKSZTAŁTU DOROBKU NAUKOWEGO

## I ROZPRAWY HABILITACYJNEJ

**Dr n. med Jacka Drobnika**

**PT. „Wpływ szyszynki na zawartość kolagenu i glikozoaminoglikanów w sercu po zawale”**

Rada Wydziału Nauk i Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi powierzyła mi rolę recenzenta dotychczasowego dorobku naukowego oraz rozprawy habilitacyjnej dr n. med. Jacka Drobnika, przygotowanej w związku z Jego staraniami o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych. Po zapoznaniu się z przedstawionymi mi dokumentami stwierdzam, iż zarówno naukowa, jak i zawodowa działalność dr med. Jacka Drobnika jest konsekwencją kolejnych etapów pracy badawczej.

Rozprawę dr n. med. Jacka Drobnika otrzymałam w formie 5 publikacji „Wpływ szyszynki na zawartość kolagenu i glikozoaminoglikanów w sercu po zawale”. Wykaz osiągnięć w pracy naukowo-badawczej, życiorys, autoreferat i spis publikacji, odbitki prac oryginalnych wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej zostały starannie przygotowane.

### **1. Niektóre dane z przebiegu pracy zawodowej oraz ocena dorobku naukowego Habilitanta**

Przegląd dorobku i przebieg pracy zawodowej dr n. med. Jacka Drobnika upoważnia mnie do podkreślenia, iż przez cały okres swojej działalności naukowej zajmował się wpływem melatoniny na niektóre elementy tkanki łącznej początkowo w modelu gojących się ran u szczurów, a następnie co jest przedmiotem przewodu habilitacyjnego, zawartością kolagenu i glikozoaminoglikanów w modelu zawału mięśnia sercowego u szczurów. Praca habilitacyjna jest konsekwencją doskonalenia warsztatu zawodowego Habilitanta zarówno w kraju, jak i podczas licznych staży zagranicznych i nawiązanych współprac międzyuczelnianych.

Doktor Jacek Drobnik rozpoczął studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Łodzi uzyskując dyplom lekarza w 1989 roku. Po ukończeniu stażu podyplomowego został zatrudniony w Zakładzie Patofizjologii Akademii Medycznej w Łodzi, gdzie pracował kolejno jako asystent (1989-1998) i adiunkt (1999-2012). W latach 2006-2010 dr Jacek Drobnik pełnił obowiązki kierownika nowo powstałego Zakładu Metabolizmu Tkanki Łącznej Katedry Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, a następnie od 2010r. pełni funkcję kierownika w/w

placówki. Od 2012 r. posiada etat starszego wykładowcy. W trakcie doskonalenia zawodowego, mimo pracy w Zakładzie teoretycznym, uzyskał I° (1999r.) specjalizacji z zakresu chorób wewnętrznych.

W roku 1992r. uzyskał tytuł doktora nauk medycznych po obronie rozprawy pt.: „Wpływ melatoniny na poziom niektórych elementów tkanki łącznej w gojących się ranach u szczurów” (promotor: Prof. dr hab. Ryszard Dąbrowski).

Efektom Jego dwukrotnego stypendium naukowego w latach 1990 i 1993 w Zakładzie Neurofizjologii Uniwersytetu im. Otto von Guericke w Magdeburgu była ocena wpływu szyszynki na efekty wazopresyny w procesach uczenia się u szczurów. Celem pracy była odpowiedź na pytanie czy szyszynka może modyfikować działanie wazopresyny poprawiającej procesy uczenia się i zapamiętywania u szczurów. Dr med. Jacek Drobnik wykazał że efekt wazopresyny jest modyfikowany przez szyszynkę i jej hormon melatoninę. Z kolei, podczas pobytu w Zakładzie Fizjologii Uniwersytetu Medycznego w Kagawie w Japonii w latach 1996-1997 przeprowadził badania mechanizmu nadciśnienia u szczurów wrażliwych na chlorek sodowy (szczury Dahla). W badaniach założono udział endoteliny w mechanizmie powstania nadciśnienia u szczurów Dahl. Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta odporne na chlorek sodowy. W oparciu o przeprowadzone badania stwierdzono odmienny mechanizm działania endotheliny obydwu badanych grup zwierząt. Dr med. Jacek Drobnik konsekwentnie zajmując się tematyką mechanizmów nadciśnienia rozszerzał zakres swojej wiedzy i umiejętności. Pobyt w latach 2000-2001 w Centrum Biofizyki Molekularnej w Orleanie we Francji oraz praca pod kierunkiem pani prof. C. Kiedy pozwoliła mu zapoznać się z nowoczesnymi technikami badań naukowych obejmującymi metodykę hodowli komórkowych, cytometrię oraz techniki stosowane w biologii molekularnej. W zespole pani prof. C. Kiedy zajmował się badaniem ekspresji receptorów dla chemokin na komórkach śródbłonna pobranych z narządów układu limfatycznego. Badał również wpływ glikozoaminoglikanów na ekspresję receptorów dla cytokin na komórkach śródbłonna. Ponadto, wdrożył badania recyrkulacji limfocytów w warunkach *in vitro*. Znaczną część metod badawczych poznanych podczas pobytu w Orleanie odtworzył w Zakładzie Patofizjologii w latach 2003-2005. Zaowocowało to stworzeniem nowej pracowni hodowli komórkowej, która została przekształcona w późniejszych latach dzięki rozszerzeniu warsztatu naukowego Habilitanta na pracownię biologii molekularnej.

W celu rozszerzenia badań naukowych i warsztatu zawodowego uczestniczył w licznych szkoleniach naukowych: w 2004r. Letnia Szkoła Biologii Molekularnej Poznań (Akademia Rolnicza w Poznaniu); w 2006r. Kurs Cytometrii Przepływowej (Becton

Dickinson); w 2010r. Komórki Zwierzęce: Hodowla, Transfekcja, Wyciszanie Genów. (Muzeum i Instytut Zoologii PAN w Warszawie); w 2013r. Komórki macierzyste, zrób to sam (Wydział Biologii, Uniwersytetu Warszawskiego).

Dr n. med. Jacek Drobnik był wykonawcą lub podwykonawcą kilku grantów, w tym:

1. Komitetu Badań Naukowych (3P05A 005 24): „Wpływ melatoniny na poziom kolagenu w bliźnie pozawałowej. Badania *in vivo* i *in vitro*”. Okres realizacji 2003-2005; 2. pracy własnej przyznanej przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (502-16-266): „Wpływ dużych dawek melatoniny na zawartość glikozoaminoglikanów w mięśniu sercowym po zawale”. Okres realizacji 2004-2005; 3. pracy własnej przyznanej przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (502-12-614): „Badanie wpływu TSH na procesy włóknienia w sercu. Badania *in vitro*. Okres realizacji” 2007-2009; 4. Narodowego Centrum Nauki (UMO- 2011/03/B/ST8/05867) pt: „Badania nad nową generacją rusztowań (scaffolds) ze zmodyfikowanego nano- i mikrofibrylarnego kolagenu z zasiedlonymi komórkami macierzystymi w aspekcie naprawy centralnego układu nerwowego”. Kierownik grantu dr hab. K. Pietrucha (Politechnika Łódzka). Okres realizacji 2012-2015; 5. grantu europejskiego uzyskanego przez Politechnikę Łódzką pt: „Biomedical textiles from dibutyrylchitin and chitin” - Chitomed (QLK5-CT-200201330, Piąty Program Ramowy). Kierownik grantu prof. dr hab. inż. I. Krucińska (Politechnika Łódzka). Okres realizacji 2002-2006; 6. Dwóch grantów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi służącego rozwojowi młodej kadry oraz uczestników studiów doktoranckich: „Wpływ histaminy na metabolizm macierzy pozakomórkowej w hodowlach fibroblastów wyizolowanych z ran powierzchniowych” 502-03/6-103-04/502-64-044. Kierownik grantu mgr M. Wolak. Okres realizacji 2012-2015r. oraz „Rola integryn i tkanki łącznej serca w przebudowie pozawałowej serca” 502-03/6-103-04/502-64-012. Kierownik grantu mgr L. Piera. Okres realizacji 2010-2013r.

Dorobek naukowy dr n. med. Jacka Drobnika, w sumie obejmuje prace oryginalne o łącznych IF=26,926 (suma punktów MNiSW 307). Liczba cytowani 120 (Web of Science) lub 140 (Scopus). Index Hirsha 6 (Web of Science) lub 7 (Scopus). Dorobek naukowy obejmuje 21 artykułów oryginalnych większość opublikowanych w czasopiśmie zagranicznych będących na liście filadelfijskiej. Warto podkreślić prace z 2008r. z *J Pineal Res* (IF=5,056) czy *Biomacromolecules* IF=4,146. Dr med. Jacek Drobnik jest pierwszym autorem 6 prac poglądowych. Pozostałe prace (41) to komunikaty i doniesienia opublikowane w materiałach zjazdowych. Jedenaście komunikatów prezentował w formie ustnej, w tym 2 na zjazdach międzynarodowych.

Na przewód habilitacyjny składa się cykl 5 prac oryginalnych o łącznym IF=13,891 (pkt. MNiSW 126). Warto podkreślić, iż Habilitant z wielokrotnością po doktoracie swój dorobek naukowy, publikując prace w recenzowanych pismach o wysokim IF.

## **2. Niektóre dane z przebiegu pracy dydaktycznej i współpracy Habilitanta z innymi jednostkami naukowymi**

Dr n. med. Jacek Drobnik jest bardzo zaangażowany w pracę dydaktyczną. Pracując w trakcie studiów w Kole Naukowym w 1989r. uzyskał nagrodę III-go stopnia na konferencji Studenckich Kół Naukowych Akademii Medycznej w Katowicach „Symposium Medicum”.

W 1995r. uzyskał stypendium Fundacji Batorego na udział w Pierwszym Kongresie Federacji Europejskich Towarzystw Fizjologicznych w Maastricht ( 9 - 12 września, 1995). Dr n. Jacek Drobnik był członkiem komitetów organizacyjnych następujących konferencji naukowych: 1. Międzynarodowego Sympozjum: Patophysiological Implications of Environmental Emergency, w Łodzi, 16-19 luty, 1993 r.; 2. XLIV Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biochemicznego w Łodzi, 16-19 września, 2009r.; 3. XXIII Zjazdu Federation of European Connective Tissue Societies and International Society for Matrix Biology Joint Meeting, w Katowicach, 25-29 sierpnia, 2012 r.

Współpracował z wieloma instytucjami naukowymi, m.i. z: 1. Katedrą Materiałoznawstwa, Towaroznawstwa i Metrologii Włókienniczej, Wydział Włókiennictwa, Politechniki Łódzkiej (prof. dr hab. inż. I Krucińska). Przedmiotem współpracy jest wyjaśnienie mechanizmu działania dibutyrylochityny stosowanej, jako opatrunku przyspieszającego gojenie ran. 2. Katedrą Materiałoznawstwa, Towaroznawstwa i Metrologii Włókienniczej, Wydział Włókiennictwa, Politechniki Łódzkiej (dr hab. K. Pietrucha). W związku z przyznaniem grantu przez NCN wykonywane są zadania badawcze pt: „Badania nad nową generacją rusztowań (scaffolds) ze zmodyfikowanego nano- i mikrofibrylarnego kolagenu z zasiedlonymi komórkami macierzystymi w aspekcie naprawy centralnego układu nerwowego” 3. Departament of Dermatology and Pediatrics New Jersey Medical School, USA Współpraca z prof. R.A. Schwartz zaowocowała napisaniem dwóch prac przeglądowych. Pierwsza z nich poświęcona była zagadnieniom patofizjologii i metodom leczenia keloidów. Druga z prac przeglądowych dotyczyła zagadnień hemochromatozy. 4. Zakładem Enzymologii Klinicznej UM w Łodzi (prof. dr hab. med. E. Hrabec). Współpraca obejmuje badanie ekspresji genów dla różnych typów białka kolagenowego w bliźnie po zawale serca. 5. Zakład Histologii i Ultrastruktury Tkanek, UM w Łodzi – (dr n. med. D.

Tosik). Współdziałanie obejmuje badanie wyizolowanych z blizny pozawałowej komórek przy pomocy mikroskopii elektronowej. 6. Zakładem Termobiologii, Instytutu Biofizyki, Uniwersytetu Łódzkiego (prof. dr hab. A. Koceva-Chyła). Współpraca dotyczyła określenia poziomu stresu oksydacyjnego u zwierząt z zawałem serca. 7. Institute of Physiological Chemistry and Pathobiochemistry, University of Munster, Niemcy (Prof. J.A. Eble). Współpraca w zakresie badań nad rodocetyną inhibitorem integryny  $\alpha 2\beta 1$ . Badano wpływ blokady integryny  $\alpha 2\beta 1$  na ekspresję genów dla białka kolagenowego w hodowlach miofibroblastów z blizny pozawałowej.

Dr med. Jacek Drobnik prowadził zajęcia dydaktyczne w postaci wykładów, seminariów oraz ćwiczeń z zakresu patofizjologii. Warto podkreślić, iż będąc w Japonii prowadził zajęcia z fizjologii układu krążenia dla studentów Wydziału Lekarskiego w Kagawa Medical School w Japonii (w latach 1996/97). W ramach dydaktyki wygłosił wykłady z patofizjologii dla studentów Wydziału Lekarskiego UM w Łodzi oraz ćwiczenia z patofizjologii dla studentów Wydziału Lekarskiego, Lekarsko-Dentystycznego, Farmaceutycznego, Ratownictwa Medycznego, Kosmetologii UM w Łodzi. Także czynnie uczestniczył w ćwiczeniach i wykładach w języku angielskim z patofizjologii dla studentów Wydziału Wojskowo-Lekarskiego, kierunek studiów w języku angielskim, kursu czteroletniego i sześcioletniego oraz studentów kierunku Lekarsko-Dentystycznego UM w Łodzi. Ponadto, prowadził ćwiczenia z fizjologii dla studentów Wydziału Farmaceutycznego, Pielęgniarstwa i Kosmetologii UM w Łodzi. Był odpowiedzialny za zorganizowanie zajęć dydaktycznych dla studentów anglojęzycznych kursów czteroletniego i sześcioletniego, Wydziału Wojskowo-Lekarskiego UM w Łodzi. Opracował również program z patofizjologii dla ww. studentów. Corocznie opracowuje i prowadzi cykl fakultatywnych zajęć z patofizjologii dla studentów anglojęzycznych kursu czteroletniego, Wydziału Wojskowo-Lekarskiego UM w Łodzi. Jest koordynatorem nauczania patofizjologii w języku angielskim studentów kursu czteroletniego, Wydziału Wojskowo-Lekarskiego UM w Łodzi. Organizował egzaminy z patofizjologii dla studentów anglojęzycznych i polskojęzycznych UM w Łodzi. Jest zaangażowany w przygotowanie wykładów i ćwiczeń z zakresu fizjologii rozwoju z embriologią dla studentów Biologii Medycznej - nowego planowanego kierunku studiów na UM w Łodzi. W 2013 roku opracował tematykę wykładów z anatomii fizjologii i patofizjologii układu krążenia dla uczniów liceów patronackich UM w Łodzi.

Dr med. Jacek Drobnik był opiekunem siedmiu prac magisterskich wykonanych przez studentów Oddziału Diagnostyki Laboratoryjnej i Wydziału Farmacji. Ponadto, pełnił funkcję promotora jednej pracy magisterskiej i jednej pracy licencjackiej i recenzował jedną pracę

licencjacką. Od 2012 r. jest członkiem Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi reprezentując pracowników nie posiadających stopnia doktora habilitowanego.

Podsumowując tę część recenzji, stwierdzam, że rozwój zawodowy Dr med. Jacka Drobnika charakteryzuje się pełną konsekwencją i dotyczy fizjologii i patofizjologii tkanki łącznej. Uzpełnieniem działań naukowych jest bardzo aktywny udział w działalności organizacyjnej i dydaktycznej.

### **3 Ocena rozprawy habilitacyjnej dr n. med. Jacka Drobnika na podstawie cyklu prac oryginalnych**

Rozprawa habilitacyjna Dr med. Jacka Drobnika składa się z cyklu 5 prac oryginalnych, p.t.: „Wpływ szyszynki na zawartość kolagenu i glikozoaminoglikanów w sercu po zawale”

Habilitant zainteresował się tematyką udziału tkanki łącznej w gojeniu ran od początku swojej pracy naukowej. Zainspirowały Go wcześniejsze obserwacje lat 60. i 70. które sugerowały, iż jednym z czynników odgrywających istotną rolę w regulacji włóknienia jest szyszynka z jej głównym hormonem melatoniną. Badania przeprowadzone przez Habilitanta w ranach powierzchownych obejmowały, co warto podkreślić, zarówno udział melatoniny, jak i jej brak w modelu usunięcia szyszynki (pinealektomii) czy farmakologicznej pinealektomii ( $\beta$ -blokerów) na procesy gojenia i zawartość kolagenu. Także zwrócił uwagę, iż w przypadku badań dotyczących szyszynki istotną rolę odgrywa godzina przeprowadzonego eksperymentu oraz dawka zastosowanego hormonu, dając częstokroć odmienne rezultaty. W przeprowadzonym ciągu doświadczeń Habilitant dobrze udokumentował regulacyjny udział melatoniny na zawartość białka kolagenowego w ranach powierzchownych. Efekt działania był zależny od dawki, pory podania indoloaminy w ciągu dnia oraz narządu docelowego. Istotnym klinicznym problemem związanym z zaburzeniami gojenia jest blizna pozawałowa mięśnia sercowego. Kolagen jest białkiem, od którego zawartości zależą zarówno procesy gojenia, jak i wytrzymałość mechaniczna blizny pozawałowej, w tym predyspozycja do tworzenia tętniaków pozawałowych czy pęknięcia blizny, co jest najczęstszą przyczyną niewydolności krążenia i zwiększonej śmiertelności.

Celem przedstawionej pracy habilitacyjnej była ocena czy melatonina wywiera regulacyjny wpływ na zawartość kolagenu i glikozoaminoglikanów w bliźnie pozawałowej serca i w części mięśnia nie objętej zawałem. Habilitant podjął się także określenia mechanizmu działania melatoniny.

Wyniki badań 5 prac wchodzących w skład przewodu habilitacyjnego wskazują na udział melatoniny w regulacji poziomu białka kolagenowego w bliźnie po zawale mięśnia sercowego. Niedokrwienie serca nasila martwicę i apoptozę komórek, a także stymuluje procesy oksydacyjne. W swoich badaniach wykorzystał obserwacje lat 90. dotyczące antyoksydacyjnego działania melatoniny w modelu niedokrwienia-reperfuzji (np. wątroby), w których miałam przyjemność brać udział. Zawał mięśnia sercowego w badaniach *in vivo* Habilitant indukował przez trwale podwiązanie tętnicy wieńcowej, czyli przedmiotem Jego badań był model niedokrwienia serca, co wyróżnia Go w porównaniu do w/w. Ze względu na swoje własne badania eksperymentalne dotyczące badań nad szyszynką mogę podkreślić, iż prace dotyczące chirurgicznego usunięcia szyszynki wymagały of Habilitanta dużego doświadczenia i dużej precyzji wykonania co było możliwe dzięki wieloletniemu doświadczeniu na tym polu pracowników Zakładu Patofizjologii, z którymi rozpoczął badania już podczas studiów. Przeprowadzone przez Habilitanta badania *in vivo* i *in vitro* wymagały dobrego przygotowania zarówno naukowego, jak i technicznego.

Habilitant wykazał, iż mechanizm działania melatoniny na stężenie białka kolagenowego w bliźnie po zawale mięśnia sercowego u zwierząt z nieuszkodzoną szyszynką jest różny od zwierząt poddanych pinealektomii. Melatonina podwyższa poziom mRNA dla łańcuchów  $\alpha 1$  prokolagenów typu I i III u pinealektomizowanych szczurów. Efektu tego nie zaobserwowano u zwierząt z zachowaną szyszynką. Ekspresja genów łańcuchów  $\alpha 1$  kolagenów typu I i III podlega wpływowi melatoniny u pinealektomizowanych szczurów. Ponadto, melatonina obniża poziom glikozoaminoglikanów w bliźnie pozawałowej. Efekt ten nie jest zależny od bezpośredniego wpływu hormonu szyszynki na miofibroblasty blizny. Stosowana w dawkach farmakologicznych, wywiera działanie antyoksydacyjne w bliźnie pozawałowej serca powstałej na skutek trwałego podwiązania tętnicy wieńcowej. Ten model przede wszystkim odpowiada niedokrwieniu mięśnia sercowego. Wzrost zawartości kolagenu w bliznach pozawałowych jest wynikiem bezpośredniego wpływu melatoniny na miofibroblasty. Efekt ten jest blokowany przez luzindol inhibitor błonowych receptorów melatoninowych. Melatonina zwiększa poziom kolagenu w hodowlach fibroblastów i miofibroblastów z ziarniny ran powierzchniowych. Działanie hormonu jest hamowane przez luzindol inhibitor błonowych receptorów dla melatoniny. Obniżenie poziomu kolagenu w ranach powierzchniowych nie może być wyjaśnione bezpośrednim działaniem melatoniny na komórki rany syntetyzujące macierz pozakomórkową. Melatonina w dawkach fizjologicznych podwyższa poziom glikozoaminoglikanów w mięśniu lewej komory nie objętym niedokrwieniem. Efekt ten może być wyjaśniony bezpośrednim wpływem hormonu na

fibroblasty mięśnia lewej komory. Działanie melatoniny jest hamowane przez luzindol.

Uzyskane przez habilitanta wyniki mogą wskazywać na udział melatoniny w zmianie stężenia białka kolagenowego w bliźnie pozawałowej. Stężenie melatoniny ulega zmianie w zależności od fazy dnia ale także od niektórych leków, w tym często stosowanych  $\beta$ -blokerów, niesteroidowych leków przeciwzapalnych, steroidów, czy innych, t.j.: leki przeciwdepresyjne, blokery kanałów wapniowych, benzodiazepiny, leki blokujące receptory  $\alpha$ -adrenergiczne mogą hamować sekrecję melatoniny do krwi.

W swojej pracy habilitacyjnej Autor wskazał na konieczność wyjaśnienia problemu czy u ludzi podczas wymienionych terapii farmakologicznych dochodzi do zmian poziomu macierzy pozakomórkowej w bliźnie pozawałowej i czy zmiany te wpływają na stan kliniczny pacjenta. Ponadto, postawił hipotezę, iż podanie melatoniny pacjentom z zawałem mięśnia sercowego może zwiększyć gromadzenie kolagenu w bliźnie pozawałowej i poprawiać stan kliniczny pacjenta. Oczywiście przeniesienie wyników badań eksperymentalnych Habilitanta na wykorzystanie u ludzi wymaga dalszych badań klinicznych.

Jak już wspomniałam wcześniej, rozprawa habilitacyjna Dr Jacka Drobnika została przedstawiona w postaci cyklu 5 prac oryginalnych, opublikowanych w recenzowanych pismach o łącznym IF=13,891 (pkt. MNiSW 126). Ciąg prezentowanych prac wskazuje na dużą dojrzałość naukową Badacza, szeroki warsztat naukowy, konsekwencję zarówno w planowaniu części eksperymentalnej, jak i umiejętność wyciągania wniosków i planowania dalszych badań. Praca habilitacyjna stanowi oryginalny wkład do rozwoju badań nad patofizjologią tkanki łącznej i mechanizmami gojenia ran, w tym blizny pozawałowej. Praca ma więc nie tylko aspekt naukowy, ale także wnosi ważny aspekt kliniczny. Uważam, że zarówno w/w rozprawa, jak i dotychczasowy dorobek naukowy Habilitanta, wraz z całokształtem Jego działalności dydaktycznej – w pełni predysponują Go do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego nauk medycznych.

Na zakończenie, z całym przekonaniem przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu Akademii Medycznej w Łodzi wniosek o dopuszczenie dr n. med. Jacka Drobnika do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Łódź, 20.08.2014 r.

