

Prof. dr hab. Joanna B. Strosznajder
Zakład komórkowej Transdukcji Sygnału
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Im. M. Mossakowskiego PAN

Warszawa 17.04.2017

Ocena całokształtu dorobku naukowego i osiągnięcia naukowego

pt. „Sygnalizacja purynergiczna w mezenchymalnych komórkach macierzystych i komórkach zróżnicowanych ,ze szczególnym uwzględnieniem udziału ekto enzymów metabolizujących puryny”

dr n. biol. Katarzyny Roszek

adiunkta Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska

Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Recenzję przygotowano na podstawie kompletu dokumentów przesłanych przez Dziekana Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Prof. dr hab. Wenera Ulricha.

Dr Katarzyna Roszek jest absolwentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. W 1998 uzyskała dyplom magistra biologii na podstawie pracy magisterskiej „Aktywność sulfohydrolityczna względem siarczanu cholesterolu w oczyszczonej frakcji lizosomalnej z łożyska ludzkiego”. W tym samym roku uzyskała dyplom Międzywydziałowego Studium Pedagogicznego Przy Uniwersytecie Mikołaja Kopernika. Od października 1998 czyli zaraz po ukończeniu studiów rozpoczęła pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Biochemii Instytutu Biologii Ogólnej i Molekularnej, Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Mikołaja Kopernika (UMK). W 2006 roku obroniła pracę doktorską pt. „ Sterosulfohydrolaza siarczanu cholesterolu z lizosomów łożyska ludzkiego „Promotorem pracy zarówno magisterskiej jak i doktorskiej była Prof. dr hab. Jadwiga Gniot-Szulżycka. Od 2008 roku do chwili obecnej dr Katarzyna Roszek pełni funkcje adiunkta w Zakładzie Biochemii, UMK.

Ocena dorobku naukowego ,

Dorobek naukowy dr Katarzyny Roszek obejmuje w sumie 52 pozycje w tym 20 publikacji oryginalnych z listy Journal Citation Reports (JCR), 10 publikacji w czasopismach z poza listy JCR 21 komunikatów konferencyjnych opublikowanych w formie streszczeń oraz 1 opracowanie monograficzne. W 8 publikacjach dr Roszek jest pierwszym autorem a przynajmniej w 9 publikacjach jest autorem korespondencyjnym. Współczynnik oddziaływania (IF) opublikowanych prac według danych przekazanych przez habilitantkę wynosi 42.73 punkty natomiast 472 punkty MNiSW. Wartość współczynnika Hirscha $H=4$ i liczba cytowań 47 (nie zaznaczono czy z autocytowaniami czy bez) okazuje się, że bez autocytowań liczba cytowań wynosi 29. Wszystkie dane są oczywiście do sprawdzenia ale powinny być poświadczone przez Bibliotekę UMK w Toruniu a tego brakuje (uwaga formalna) W wykazie opublikowanych prac naukowych i w oświadczeniach współautorów załączono wkład współautorów, natomiast brakuje ich zgody na wykorzystanie wyników wspólnych badań do załączonego osiągnięcia naukowego (uwaga formalna, bardzo istotna).

Wszystkie prace oryginalne ukazały się po obronie pracy doktorskiej, należy zaznaczyć, że opublikowana w 2008 roku praca w J. Steroid Biochemistry and Molecular Biology pt. „Cholesterol sulphate sulphohydrolase of human placenta lysosomal membrane„ była wynikiem kilku lat pracy i zawierała wyniki badań wykonane przed obroną pracy doktorskiej a udział dr Roszek w powstaniu tej publikacji oceniany jest na 85%. W okresie przed doktoratem wyniki badań prezentowane były na konferencjach Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (PTBioch) i opublikowane w formie streszczeń zjazdowych. Praca naukowa Kandydatki do stopnia doktora hab. przed obroną pracy doktorskiej koncentrowała się na wyizolowaniu, oczyszczaniu i charakterystyce kinetycznej sterolosulfohydrolazy siarczanu cholesterolu (CHSazy). Enzym ten wówczas nie opisywany w literaturze wyróżniał się wysoką specyficznością z pośród znanych sulfohydrolaz względem siarczanu cholesterolu i został scharakteryzowany w badaniach w których istotny wkład miała wówczas mgr K. Roszek. Przed uzyskaniem stopnia doktora Kandydatka była współautorką pracy opublikowanej w Acta UNC Biol w 2001 oraz pierwszym autorem kolejnych czterech prac przeglądowych w Postęпах Biologii Komórki, (w 2000 i 2001 roku) kolejnej w Kosmosie (2003) a następnie w Postęпах Biochemii (2005) Wyniki swoich badań przedstawiała na kolejnych Zjazdach PTBioch (w latach 2001, 2002, 2005 i 2006) i zostały one opublikowane w Acta Biochimica Polonica (Suppl).

Po obronie pracy doktorskiej Dr Roszek dołączyła do Zespołu Profesora Michała Komoszyńskiego i po odbyciu stażu w 2007 roku w Zakładzie Inżynierii Tkankowej Collegium Medicum UMK oraz po nawiązaniu współpracy z Oddziałem Ginekologiczno-Położniczym Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego im. L. Rydygiera w Toruniu rozpoczęła badania nad rolą przekaźnictwa purynergicznego w mezynchymalnych komórkach macierzystych (MSC) izolowanych z krwi pępowinowej i szpiku kostnego i indukowanych do różnicowania oraz w komórkach dojrzałych. W okresie po uzyskaniu stopnia doktora nastąpił znaczący rozwój naukowy i publikacyjny dr K. Roszek. W latach 2008-2017 opublikowała 20 prac z listy filadelfijskiej, 5 publikacji spoza listy JCR oraz 1 monografie jak również przedstawiła wyniki swoich badań na 17 konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych. Zwraca uwagę fakt,

że dr K Roszek nie odbyła stażu naukowego w żadnym ośrodku zagranicznym, być może nie miała odpowiednich możliwości, nie miała też prawdopodobnie możliwości zaprezentowania wyników swoich badań na szerszym forum międzynarodowym. Wykazała natomiast dużą inicjatywę w organizowaniu badań i współpracy naukowej w kraju o czym wspomniano powyżej. Na podkreślenie zasługuje również jej współpraca z Zakładem Biofizyki UMK i z Przychodnią Weterynaryjną Max-Vet w zakresie izolacji i hodowli mezenchymalnych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej psów oraz opracowania metod różnicowania tych komórek do różnych typów komórek dojrzałych. Wyniki tej współpracy znalazły odzwierciedlenie w publikacji w *J Stem Cells Res* 2014 (Roszek K, Czarnecka J) i w kilku prezentacjach konferencyjnych, w tym o zasięgu międzynarodowym. Ważnym nurtem zainteresowań badawczych Dr Roszek poza głównym nurtem badawczym jest poszukiwanie biomedycznych zastosowań dla nowoczesnych materiałów nanostrukturalnych. W tym zakresie współpracuje Ona z dwoma ośrodkami krajowymi i jednym w USA a wyniki tej współpracy prezentowane były na kilku konferencjach krajowych i międzynarodowych w latach 2013-2015 i zostały opublikowane w *Oncotarget* 2015 (Nowacki i wsp.) oraz w *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2016 (Wiśniewski M i wsp.). W ocenie działalności naukowej Dr Roszek po doktoracie badania nad zastosowaniem materiałów nanostrukturalnych stanowią ważny aspekt jej zainteresowań naukowych. Dotyczy to również wykorzystania nanomateriałów jako nośników leków, w tym leków przeciwnowotworowych i należy zauważyć, że Dr Roszek jest współwykonawcą grantu NCN z 2015r dotyczącego nowych związków w terapii przeciwnowotworowej.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe obejmuje 7 publikacji we wszystkich pracach dr K Roszek jest autorem korespondencyjnym a w 5-ciu pierwszym autorem. Wszystkie prace zostały opublikowane w pismach o szerokim zasięgu oddziaływania i łącznym IF=21,325. W pięciu pracach udział dr K. Roszek wynosił 70-75% w pozostałych dwóch 20 i 25 %. Omówienie wyników własnych badań w załączonym Autoreferacie poprzedzone jest wprowadzeniem na temat ekto-enzymów uczestniczących w metabolizmie puryn i w regulacji sygnalizacji purynergiczej. Przeprowadzone przez Dr K. Roszek badania umożliwiły przedstawienie celu naukowego badań przedstawionych w załączonym cyklu prac i mieści się on w tytule osiągnięcia.

„Sygnalizacja purynergiczna w mezenchymalnych komórkach macierzystych i komórkach zróżnicowanych ze szczególnym uwzględnieniem udziału ekto-enzymów metabolizujących puryny„

Cel badawczy obejmuje wymienione poniżej zagadnienia :

Określenie różnic we wrażliwości na sygnały nukleotydowe mezenchymalnych komórek macierzystych, komórek indukowanych do różnicowania oraz komórek dojrzałych zróżnicowanych.

Zbadanie profilu aktywności i ekspresji ekto-enzymów zaangażowanych w metabolizm puryn w wymienionych komórkach.

Wykazanie zależności pomiędzy sygnalizacją purynergiczną komórek a ich potencjałem proliferacyjnym i możliwościami różnicowania.

Badania Kandydatki opublikowane w *Biochem Cell Biol* 2013 r. a prowadzone na niezróżnicowanych mysich mezenchymalnych komórkach macierzystych ze szpiku kostnego oraz na komórkach różnicowanych w kierunku osteoblastów wykazały, że różnicowanie *in vitro* zmienia znacząco profil ekspresji i aktywności ekto-enzymów metabolizujących puryny. Kolejne badania prowadzone na komórkach mezenchymalnych z krwi pępowinowej różnicowanych w kierunku chondrocytów potwierdziły znaczenie ekto-nukleotydów w procesie różnicowania i proliferacji. W komórkach indukowanych do różnicowania w chondrocyty dr Roszek wykazała wzrost ekspresji i aktywności ekto-fosfohydrolazy di i trifosfonukleozydów (ekto-NTPDaz) 1 i 3 natomiast stwierdziła obniżenie ekspresji i aktywności ekto-5'-nukleotydyazy. Ponadto równocześnie, analogicznie jak w przypadku osteoblastów tym zmianom enzymatycznym towarzyszyła stwierdzona przez Habilitantkę hydroliza ATPi ADP i obniżona intensywność hydrolizy AMP do adenozyiny. Na podkreślenie zasługuje dokonana po raz pierwszy charakterystyka ekspresji ekto-enzymów i określenie ich aktywności hydrolitycznej do ekto-nukleotydów w komórkach mezenchymalnych (MSCs) z krwi pępowinowej w tym różnicowanych do chondrocytów. Wyniki badań opublikowano w *J. Cell. Biochem.* w 2015 roku. Badania prowadzone przez Dr K Roszek wykazały ponadto wzrost ekspresji aktywności hydrolitycznej błonowych ekto-NTPDaz 1,3,8 w komórkach neuroprogenitorowych. Dr K. Roszek w prowadzonych pod jej kierunkiem badaniach wykazała, że obecność egzogenego ATP (20,100uM) zwiększa wydajność różnicowania komórek a zjawisku temu towarzyszy równoczesny znaczący wzrost aktywności hydrolitycznej ekto-enzymów względem egzogenego ATP. Kandydatka wykazała, że ATP aktywuje proces różnicowania komórek macierzystych, aktywuje ich proliferację i regenerację uszkodzeń. Uzyskane dane mogą równocześnie tłumaczyć stwierdzoną niską aktywność hydrolityczną względem ATP i ADP w niezróżnicowanych komórkach macierzystych. Zaobserwowany wpływ nukleotydów na proces różnicowania i proliferacji okazał się szczególnie aktywny w komórkach indukowanych w kierunku neurogenezy. Wyniki zostały opublikowane w 2016 r. w *J. Cell. Biochem.* Znaczenie nukleotydów purynowych i sygnalizacji purynergiczej przedstawione w wymienionej powyżej publikacji zostało po raz kolejny wykazane w dalszych badaniach prowadzonych przez Dr Roszek i zostało udokumentowane w następnych pracach. Zbliżone wyniki uzyskała Habilitantka w badaniach prowadzonych na psich mezenchymalnych komórkach macierzystych wyizolowanych z tkanki tłuszczowej. Dr K Roszek w badaniach na komórkach niezróżnicowanych oraz indukowanych w kierunku neuralnym wykazała, że również w tym modelu badawczym mikromolowe stężenia ATP i adenozyiny w znaczący sposób aktywują proces proliferacji i różnicowania a zjawisku temu towarzyszy istotny wzrost aktywności ekto-NTP-az. Wyniki badań zostały opublikowane w *J. Cell. Biochem.* w 2017.

Wysokie stężenie ATP w układzie nerwowym spowodowane uszkodzeniem komórek, jak pisze Habilitantka, ale również nadmiernym jego uwalnianie może prowadzić do istotnych zaburzeń molekularnych i może leżeć u podłoża przedłużających się stanów zapalnych i

neurodegeneracji. W komórkach zróżnicowanych i dojrzałych jak wykazały badania dr K Roszek ATP wywołuje efekty cytotoksyczne i hamuje proliferację. Zagadnienie to Habilitantka omówiła szerzej w pracy poglądowej napisanej na zaproszenie i opublikowanej w Medicinal Chemistry w 2015 roku co świadczy o dostrzeżeniu i docenieniu wyników Jej badań. Prace spotkały się jak na razie z małym zainteresowaniem czytelników sądząc z ilości cytowań ale możliwe, że wynika to z faktu, że badania mają przede wszystkim charakter poznawczy. Dotyczą one bardzo ważnej grupy enzymów, dotychczas słabo zbadanych. Ponadto ważne prace Habilitantki zostały opublikowane w 2016 i 2017 r. i wobec tego nie dotarły być może jeszcze do szerszego grona badaczy. Zwraca uwagę fakt, że liczba cytowań podana przez Habilitantkę wg. Google Scholar Citation wynosi 86 i wartość H= 5 co może świadczyć o wzrastającym zainteresowaniu Jej publikacjami.

Fakt ten nie wpływa na moją wysoką ocenę merytoryczną prac prowadzonych przez dr K. Roszek.

Na podstawie uzyskanych wyników badań Dr K Roszek stwierdziła że:

1. Ekto-enzymy zaangażowane w metabolizm nukleotydów purynowych są odmiennie ekspresjonowane w różnych typach komórek i pełnią nadrzędną rolę w determinowaniu jakości sygnału nukleotydowego i odpowiedzi komórki. Różnice w profilu ekspresji i aktywności ekto-enzymów korelują z tempem proliferacji oraz z różnicowaniem komórek. Dr Roszek wnioskuje, że enzymy te mogą być brane pod uwagę jako markery potencjału biologicznego komórek.
2. Komórki macierzyste cechuje odmienna wrażliwość na sygnał nukleotydowy w szczególności na ATP
3. Nie zawsze pożądane jest obniżenie i/lub całkowite usuwanie ATP ze środowiska zewnątrzkomórkowego. Konieczne jest utrzymanie równowagi i precyzyjne kontrolowanie równowagi nukleotydowej na zewnątrz komórki.

Wniosek pierwszy wskazujący na możliwość wykorzystania oznaczeń aktywności ekto-enzymów jako potencjalnych biomarkerów określających potencjał komórek do proliferacji i różnicowania uważam za bardzo ważny. Istotny jest również wniosek dotyczący utrzymania i kontrolowania równowagi stężeń nukleotydów purynowych przede wszystkim ATP w przestrzeni zewnątrzkomórkowej w procesach różnicowania i proliferacji.

Należy zwrócić uwagę na bardzo istotny fakt, że badania prowadzone przez Dr Roszek mają charakter nowatorski, dotyczą bowiem ekspresji i aktywności ekto-enzymów odpowiedzialnych za metabolizm nukleotydów i nukleozydów purynowych i regulację ich stężeń w przestrzeni zewnątrzkomórkowej oraz regulację procesu przekazywania purynergicznego.

Uważam, że przedstawione w publikacjach wyniki poszerzają naszą wiedzę dotyczącą ektonukleotydu oraz kinazy adenylanowej, znaczenia ATP oraz adenozyliny w regulacji proliferacji, różnicowania mezenchymalnych komórek macierzystych z krwi pępowinowej (UC MSCs) oraz z innych tkanek ludzkich i zwierzęcych. Uzyskane przez Dr K Roszek wyniki mają również istotne znaczenie praktyczne dotyczące możliwości wykorzystania ich w celu udoskonalenia namnażania i różnicowania mezenchymalnych komórek macierzystych w hodowli i następnie do dalszego ich stosowania. Dr K. Roszek zamierza wykorzystać uzyskane wyniki do dalszych badań aplikacyjnych uwzględniających modulatory i egzogenne ekto-enzymy metabolizujące nukleotydy. Związki te w zamierzeniu Habilitantki mają być dostarczane do komórek za pomocą nanostrukturalnych układów transportujących i odpowiednio zmodyfikowane komórki mogą być pomocne w terapii chorób neurodegeneracyjnych i przewlekłych stanów zapalnych.

Ocena działalności dydaktyczno- organizacyjnej

Dr Katarzyna Roszek prowadziła wykłady dla studentów biotechnologii i biologii dotyczące kultur tkankowych zwierząt, biochemii zwierząt, hodowli in vitro komórek zwierzęcych oraz w ramach wykładów ogólnouczeniowych wykłady pt. „Organizmy modyfikowane genetycznie„ i „Kuchnia molekularna„.

Habilitantka bierze czynny udział w prowadzeniu kursów szkoleniowych dla studentów II i III roku biotechnologii, biologii i chemii od 2013r do chwili obecnej w wymiarze 30h/semestr. Tematyka prowadzonych przez nią kursów i ćwiczeń dotyczy szerokiego zakresu zagadnień z dziedziny hodowli komórkowych, enzymologii biochemii/patobiochemii i chemii biomedycznej. Dr K. Roszek, opracowuje program i instrukcje do ćwiczeń oraz prowadzi ćwiczenia ze studentami. Aktywnie uczestniczy również w popularyzacji nauki od 2002-2017 roku prowadzi wykłady i warsztaty w trakcie Toruńskiego Festiwalu Nauki i Sztuki w czasie „Nocy Biologów„

Na podkreślenie zasługuje również Jej aktywny udział w prowadzeniu prac licencjackich była promotorem 13 prac i promotorem 3 prac magisterskich oraz opiekunem naukowym 15 prac magisterskich jak również promotorem pomocniczym, doktoratu Magdaleny Wujak pt. „Charakterystyka i ocena roli kinazy adenylanowej w fizjologii i patologii układu krwionośnego„.

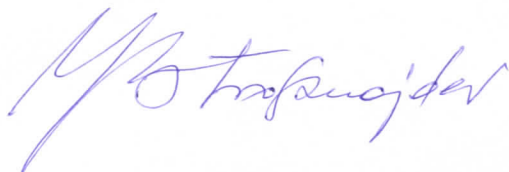
Dr Katarzyna Roszek była przewodniczącą i członkiem komitetów organizacyjnych paru ważnych konferencji w tym dwukrotnie Polskiego Towarzystwa Biochemicznego w 2001 i 2013 oraz Konferencji „NanoBioMateriały”. Od roku 2009 do chwili obecnej jest sekretarzem Toruńskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Biochemicznego„. Jest też członkiem Editorial Board J. Stem Cell Res. od 2014 roku. Za działalność organizacyjną uzyskała dwukrotnie wyróżnienie Rektora UMK. Była recenzentką prac do wielu pism o zasięgu międzynarodowym.

Dr Katarzyna Roszek była kierownikiem dwóch grantów badawczych Rektora UMK i jest wykonawcą grantu NCN (2016-2019) ponadto była wykonawcą i w jednym przypadku asystentem koordynatora trzech dużych kilku milionowych projektów finansowanych ze środków Unii Europejskiej na „Wzbogacenie oferty edukacyjnej I i II stopnia kierunku biotechnologia„ i „Nowoczesne techniki badawcze stosowane w biologii, biotechnologii i diagnostyce„.

Wnioski końcowe

Podsumowując pracę naukową dr Katarzyny Roszek oceniam pozytywnie i stwierdzam, że Jej dorobek naukowy jest merytorycznie bardzo ważny. Prowadzone przez Nią badania biochemiczne i molekularne na mezenchymalnych komórkach macierzystych indukowanych do różnicowania oraz na komórkach dojrzałych a dotyczące ekspresji i aktywności ekto-enzymów odpowiedzialnych za regulacje metabolizmu, poziomu i przekąźnictwa purynergicznego mają istotne znaczenie poznawcze i znaczenie dla nauk medycznych i klinicznych.

Osiągnięcie naukowe, cały dorobek naukowy, działalność dydaktyczna, popularyzatorska i organizacyjna spełniają wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego. A zatem, wnioskuję do Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o nadanie dr Katarzynie Roszek stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, dyscyplinie biologia.



Prof. dr hab. n. med. Joanna B. Strosznajder