



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Laboratorium Katedry i Zakładu Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej
Centrum Badań Przedklinicznych CePT

Prof. dr hab. med. Andrzej Członkowski

Recenzja

dotycząca postępowania habilitacyjnego na podstawie osiągnięcia naukowego

pt. „Kwas sialowy i jego receptory z rodziny Siglec jako potencjalne wskaźniki patologii układu nerwowego i oddechowego” oraz pozostałego dorobku

dr. n. med. Przemysław Wielgata

Dr Przemysław Wielgata w 2003 roku uzyskał dyplom magistra farmacji (kierunek Farmacja Aptechna) na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej w Akademii Medycznej w Białymstoku na podstawie pracy magisterskiej pt. „Aktywność beta-galaktozydazy w surowicy krwi pacjentów z boreliozowym zapaleniem stawów”. Stopień doktora nauk medycznych (specjalność: biologia medyczna) uzyskał w 2005 roku w Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej w Akademii Medycznej w Białymstoku na podstawie pracy doktorskiej pt. „Aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w guzach nowotworowych”.

Pracę zawodową rozpoczął w latach 2005 – 2007 jako specjalista naukowo-techniczny w Zakładzie Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. W 2007 roku uzyskał dwuletni, podoktorski staż naukowy w Institute of Reconstructive Neurobiology, Life & Brain Center, University of Bonn (RFN). Po powrocie do Białegostoku kontynuował pracę w Zakładzie Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego na stanowisku asystenta (w latach 2009 – 2013, do 2018 roku na stanowisku specjalisty naukowo-technicznego) Od 1. 10. 2018 r. jest zatrudniony w tym samym Zakładzie na stanowisku adiunkta.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe składa się z cyklu pięciu oryginalnych prac opublikowanych w języku angielskim, powiązanych tematycznie i opublikowanych w latach 2011 - 2018 znajdujących się w bazie Journal Citation Reports. Sumaryczny współczynnik oddziaływania tych czasopism wynosi 11,467 (MNIŚW = 115 punktów). We wszystkich publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia Habilitant jest pierwszym autorem. Zgodnie z informacją Habilitanta potwierdzaną przez współautorów, jego udział w tych publikacjach polegał między innymi na tworzeniu koncepcji badań, zaplanowaniu i wykonywaniu doświadczeń w tym hodowli i kokultur komórkowych, wykonanie badań

ul. Banacha 1b; 02-097 Warszawa
sekretariat tel. (+48) 022 116 6160, faks:(+48) 022 116 6202
e-mail:farmakologia@wum.edu.pl
www.wum.edu.pl

immunocytochemicznych, PCR i Western blot, izolacji struktur mózgowych a następnie synaptosomów, izolacji komórek z indukowanej płwociny pacjentów, uczestnictwie w analizie metodą cytometrii przepływowej, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, przygotowaniu manuskryptów i finalnej wersji pracy. Procentowy swój udział w realizacji prac Habilitant oszacował na od 90%, 80%, 85%, 70% i 80%.

Tytuł osiągnięcia naukowego „Kwas sialowy i jego receptory z rodziny Siglec jako potencjalne wskaźniki patologii układu nerwowego i oddechowego” dobrze oddaje problematykę badawczą. Badania nad znaczeniem glikozylacji w patogenezie stanów chorobowych stanowią jeden głównych kierunków pracy naukowej dra P. Wielgata. Glikozylacja jest istotna w rozwoju chorób o podłożu zapalnym i może być wskaźnikiem progresji procesu chorobowego. Są dowody, że analiza ekspresji i funkcji sialowanych glikokoniugatów i ich receptorów Siglec może być przydatnym wskaźnikiem prognostycznym i celem terapeutycznym.

Wyniki badań zawartych w pierwszej publikacji osiągnięcia naukowego wskazują na rolę kwasu sialowego i jego receptorów Siglec w regulacji interakcji międzykomórkowych w mózgu. Między innymi wykazano, że enzymatyczne usunięcie kwasu sialowego zmniejszyło gęstość neurytów i liczbę perikarionów, co może sugerować, że sialowane glikokoniugaty błony komórkowej pełnią kluczową rolę w prawidłowym funkcjonowaniu i przeżywalności neuronów. Wykazano również, że enzymatyczna dasialilacja komórek nerwowych zaburza integralność komórek w kokulturze neuron-mikroglej. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że immunosupresyjne receptory z rodziny Siglec mogą uczestniczyć w regulacji integracji neuronalnej, a immunosupresyjne szlaki sygnałowe związane z tymi receptorami pośredniczą w utrzymaniu integralności neuronalnej w warunkach fizjologicznych.

Celem drugiej pracy było określenie wpływu przewlekłego stresu na proces sialilacji neuronalnych cząsteczek adhezyjnych (NCAM; izoformy 140 kDa) znanych jako marker plastyczności neuronalnej w procesie tworzenia śladów pamięciowych. Względna zawartość kwasu sialowego na glikanach NCAM w izolowanych synaptosomach hipokampa była analizowana metodą Western blot z wykorzystaniem przeciwciała monoklonalnego anty-PSA-NCAM. Badanie wykazało przeciwny wpływ przewlekłego stresu i egzogenego kortykosteronu na ekspresję polisialowanych NCAM (PSA-NCAM), pomimo porównywalnego stopnia zaawansowania osłabienia funkcji poznawczych. Obecne badanie wykazało, że przewlekły stres zmniejszył aktywność alfa-neuraminidazy w synapsach hipokampa, z towarzyszącym wzrostem poziomu sialilacji NCAM. Wyniki sugerują udział alfa-neuraminidazy w regulacji funkcjonalnych i anatomicznych zmian plastyczności neuronalnej w hipokampie podczas narażenia na przewlekły stres. Habilitant zwraca uwagę na fakt, że wyniki powyższych badań „pozwoliły po raz pierwszy na wskazanie relacji między zmianami aktywności alfa neuraminidazy, ekspresją PSA-NCAM i deficytami poznawczymi”.

Kontynuując badania mające na celu sprawdzenie czy istnieje zależność między ogólnoustrojowym procesem zapalnym a ekspresją kwasów sialowych połączonych wiązaniem alfa2,3-, alfa2,6- i alfa2,8 w oun. W trzeciej pracy osiągnięcia naukowego wykorzystano zwierzęcy model zapalenia ogólnoustrojowego wywołanego przez dootrzewnowe podanie myszom lipopolisacharydu w ciągu czterech dni. Uzyskano podwyższoną ekspresję markerów stanu zapalnego. Zbadano również wpływ procesu zapalnego indukowanego lipopolisacharydem na ekspresję immunosupresyjnego receptora Siglec-F w komórkach mikrogleju. Wyniki badań sialilacji w oun podczas ostrego stanu zapalnego indukowanego lipopolisacharydem wskazują na wzrost alfa2,3; alfa2,6 i alfa2,8 sialilacji w hipokampie co dowodzi wysokiej wrażliwości tej struktury na czynniki degeneracyjne.

Kolejna praca nawiązuje do badań prowadzonych już wcześniej w Zakładzie Farmakologii Klinicznej UM nad etiopatogenezą i nowymi formami terapii przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. Założenia pracy opierały się na wcześniejszych badaniach Habilitanta, które wykazały, że kwas sialowy może być wskaźnikiem progresji stanu chorobowego. Wyniki miały pomóc w wyjaśnieniu roli receptorów Silec-5 i Silec-14 oraz ich regulacji przez glikokortykosteroidy w przebiegu POCHP. Analiza wyników wykazała, że wziewne glikokortykosteroidy powodują zmniejszenie liczby komórek CD14+ z jednoczesnym dwukrotnym wzrostem ekspresji białka Siglec-5/14 na ich błonie komórkowej. Ta obserwacja może sugerować, glikokortykosteroidy poprzez nasilenie ekspresji sparowanych receptorów Siglec-5/14 mogą mieć korzystny albo negatywny wpływ na przebieg choroby w zależności od fenotypu pacjenta. Habilitant podkreśla, że ..."praca jest pierwszym badaniem w zakresie receptorów Siglec uwzględniającym zależność ekspresji tych receptorów od zastosowanego przeciwzapalnego leczenia klinicznego, a prezentowane obserwacje zostały potwierdzone przez niezależne badania..."

W piątej pracy Habilitant ocenia wpływ narażenia na dym papierosowy na profil sialilacji i ekspresję receptorów Silec w komórkach nabłonka oddechowego i monocytach. Wykorzystano tu model narażenia na dym papierosowy w warunkach in vitro obejmujący komórki A549 i THP-1 hodowane w medium kondycjonowanym dymem papierosowy. W wyniku ekspozycji na dym papierosowy poziom alfa2,3 i alfa2,8 sialilacji był najwyższy w komórkach nabłonka oddechowego A549. Komórki A549 i monocyty THP-1 nie wykazywały zmian alfa2,6 sialilacji w odpowiedzi na dym papierosowy, ale wzrost ekspresji receptorów Siglec zaobserwowano w komórkach THP-1. Dr P. Wielgat zwraca też uwagę na fakt, że prezentowane badania miały charakter pionierski wskazując na istotny czynnik indukujący zmiany funkcjonalne w odpowiedzi immunologicznej wynikające ze zmian ekspresji receptorów Siglec i sialilacji komórek układu oddechowego.

Wyniki zawarte w omawianych pięciu publikacjach dr P. Wielgat podsumował w formie pięciu wniosków:

- kwas sialowy warunkuje utrzymanie integralności strukturalnej i funkcjonalnej w mózgu, w szczególności jest ważnym elementem oddziaływań komórkowych neuron-mikroglej.
- zmiany ekspresji PSA-NCAM mogą być wskaźnikiem do oceny anatomicznych i funkcjonalnych mózgu w procesach neurodegeneracyjnych związanych z zaburzeniami procesów poznawczych.
- **stopień i profil sialilacji oraz oznaczanie ekspresji immunoaktywujących i immunosupresyjnych receptorów z rodziny Siglec może być ważnym wskaźnikiem oceny i rokowania zmian chorobowych z towarzyszącym stanem zapalnym.**
- **analiza ekspresji receptorów Siglec-5 i Siglec-14 może być ważnym narzędziem do prognozowania rozwoju POCHP, ryzyka zakażeń bakteryjnych i wirusowych w tej grupie pacjentów. Określenie dystrybucji genów SIGLEC5 i SIGLEC14 i ich produktów może być pomocne w indywidualnej charakterystyce pacjentów z POCHP przed zalecaną terapią glikokortykosteroidami.**
- Badanie profilu receptorów Siglec, szczególnie sparowanego receptora Siglec-5/14, w komórkach zapalnych drzewa oskrzelowego palaczy może być pomocne w określeniu ryzyka i prawdopodobnego przebiegu stanów zapalnych układu oddechowego.

Sądzę, że wniosek trzeci i czwarty zasługują na szczególną uwagę. Warto również zauważyć jak Habilitant jest ostrożny w przedstawianiu wniosków i często stosuje: „na podstawie wyników można...”, obserwację można interpretować..., można tłumaczyć również..., można sugerować..., co wskazuje na udział..., można tłumaczyć udziałem..., itp.

Dorobek naukowy

Dorobek naukowy dra P. Wielgata obejmuje 21 oryginalnych pełnotekstowych prac naukowych w czasopismach o łącznym współczynniku oddziaływania 43,496 (547 punktów KBN/MNSW), oraz 3 prace poglądowe w czasopismach bez IF; (15 punktów KBN/MNiSW).

Publikacje były cytowane 175 razy. Indeks Hirscha wynosił 7.

Dr P. Wielgat podczas stażu podoktorskiego na Uniwersytecie w Bonn (2007 – 2009) był wykonawcą w dwóch projektów: 1. Neuroprotective strategies for multiple sclerosis (EU Framework Programme 6); 2. Innate immunity in chronic neurodegeneration (DFG 2007 – 2013). W latach 2007-2018 kierował siedmioma projektami statutowymi i był wykonawcą w 10 projektach statutowych finansowanych przez UM w Białymstoku. Obecnie kieruje grantem naukowym NCN „Ocena zmian sializacji ekspresji immunoreceptorów Siglec jako nowy aspekt immunomodulacyjnego działania deksametazonu w komórkach glejaka”(2017-2018) oraz pracą statutową finansowaną przez UM w Białymstoku „Udział kwasu sialowego i jego receptorów Siglec w regulacji immunogenności komórek glejaka w systemie glejak-mikroglej i ekspozycji na glikokortykosteroidy” (2018-2019).

Podstawowe zainteresowania badawcze Habilitant poza zagadnieniami zebranyymi w przedstawionym osiągnięciu naukowym dotyczą następujących zagadnień:

1. badania nad aktywnością i znaczeniem egzoglikozydaz lizosomalnych w stanach patologicznych
2. badania nad patomechanizmem schorzeń, w tym przewlekłą obturacyjną chorobą płuc, powodowanych przez narażenie na dym papierosowy
3. prace nad prokognitywnym działaniem angiotensyny IV. Wykazano, że angiotensyna ma również istotne znaczenie w formowaniu śladów pamięciowych po podaniu domózgowym, efekt ten zależy od receptorów dopaminergicznych D1, D2, D3 i D4. Wykazano również, że kandesartan (bloker receptorów AT-1 stosowany w terapii nadciśnienia tętniczego), może ograniczać zaburzenia pamięci i upośledzenie funkcji poznawczych u starszych szczurów. Niestety u młodych szczurów może pogorszyć pamięć. Obecnie planowane są badania wpływu kandesartanu na związane z wiekiem procesy zapalne w mózgu.
4. współpraca z innymi jednostkami naukowymi UM w Białymstoku w jej wyniku powstały trzy publikacje:
 - Cerebrospinal fluid IL-6, TNF-alfa and MCP-1 in children with acute lymphoblastic leukemia during chemotherapy.
 - Spatially pathogenic forms of the tau detected in Alzheimer's disease brain tissue by fluorescence lifetime-based Forster resonance energy transfer.
 - Negative correlation between cerebrospinal fluid tau protein and cognitive functioning in children with acute lymphoblastic leukemia.

Wyniki najnowszych badań nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego opublikowane zostały 2018 roku:

- MicroRNA-9 and cel proliferation i lipopolysaccharide and dexamethasone-treated naive and desialylated A549 cells grown in cigarette smoke conditioned medium.
- Candesartan, angiotensin II type 1 receptor blocker is able to relieve age-related cognitive impairment

Wartym uwagi jest również zapraszanie dra P. Wielgata do recenzowania manuskryptów przez redaktorów czasopism o międzynarodowym zasięgu oraz udział w międzynarodowych konferencjach naukowych.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Zajęcia dydaktyczne dotyczące farmakologii klinicznej ze studentami Wydziału Lekarskiego, Oddziału Stomatologii i Fizjoterapii (również w języku angielskim) prowadzi dr P. Wielgat od początku zatrudnienia Zakładzie Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznej w Białymstoku.

Jest opiekunem Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz od 2017 roku opiekunem naukowym doktoranta w tym zakładzie..

Obecnie jest skarbnikiem Oddziału Białostockiego Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego.

Podsumowanie

Na podstawie analizy dorobku naukowego dra Przemysława Wielgata, a przede wszystkim cyklu pięciu publikacji stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego pt. „Kwas sialowy i jego receptory z rodziny Siglec jako potencjalne wskaźniki patologii układu nerwowego i i oddechowego” uważam, że zarówno dorobek ten jak i pozostałe osiągnięcia odpowiadają wymogom przewidzianym ustawą o stopniach i tytule naukowym. W związku z powyższym pragnę złożyć wniosek o dopuszczenie dr. n. med. Przemysława Wielgata do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Warszawa, 18. 01. 2019 r.



Prof. dr hab. med. Andrzej Członkowski

prof. dr hab. med. Andrzej Członkowski