



UNIwersytet Medyczny Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Zakład Medycyny Środowiskowej

Centrum Biologii Medycznej

tel.: 61 854-76-04

ul. Rokietnicka 8

e-mail: envmed@ump.edu.pl

60-806 Poznań

Poznań, 04.10.2019

Ocena dorobku naukowego dr n. med. Marzeny Skrzypczak-Zielińskiej w związku z powołaniem przez Centralną Komisję ds. Stopni i Tytułów na recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym.

Materiały otrzymane do recenzji.

Do oceny w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr n. med. Marzeny Skrzypczak-Zielińskiej wpłynęły następujące materiały: wniosek, autoreferat wraz wykazem opublikowanych prac i pozostałych osiągnięć naukowych w języku polskim i angielskim, analiza bibliometryczna dorobku naukowego, zestawienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia pt. „*Molekularne aspekty badań farmakogenetycznych w nieswoistych chorobach zapalnych jelit i wrażliwości na anestetyki*” i kopia dyplomu. Nadesłany materiał w pełni umożliwił przygotowanie oceny w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Dane biograficzne i działalność zawodowa.

Dr n. med. Marzena Skrzypczak-Zielińska uzyskała stopień naukowy magistra inżyniera biotechnologii nadany przez Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu w 2004 roku na podstawie rozprawy „*Zastosowanie zmodyfikowanej metody hodowli komórek Caco-2 w badaniach nad adhezją bakterii probiotycznych i transportem*.” W tym samym roku Habilitantka ukończyła również Studium Przygotowania Pedagogicznego przy Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. W latach 2004-2009 Habilitantka przebywała na stażu naukowym w ramach programu Leonardo da Vinci oraz odbyła studia doktoranckie w Instytucie Genetyki Człowieka na Wydziale Medycznym Uniwersytetu w Lipsku w Niemczech (*Institut für Humangenetik an der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig*). Tam też w 2009 roku uzyskała stopień doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy napisanej pod opieką prof. dr hab. med. Ursuli Froster, zatytułowanej „*Evaluierung der HPLC und Long PCR als Verfahren zur Fragmentgrößenbestimmung bei Erkrankungen mit Trinukleotid-Repeat-Verlängerung*”. Rozprawa ta została wyróżniona przez Radę Naukową Uniwersytetu w Lipsku. Od 2009 roku dr n. med. Marzena Skrzypczak-Zielińska związana jest zawodowo z Instytutem Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, gdzie od 2010 roku jest zatrudniona na stanowisku adiunkta. W ramach dalszego rozwoju zawodowego Kandydatka podjęła kształcenie na Studiach Podyplomowych w zakresie Analityki Medycznej prowadzonych przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi, uzyskując uprawnienia diagnosty

laboratoryjnego w 2011 roku. Tam też podjęła kształcenie specjalizacyjne w zakresie Laboratoryjnej Genetyki Medycznej, które zakończyła w 2017 roku.

Opinia o osiągnięciu naukowym „Molekularne aspekty badań farmakogenetycznych w nieswoistych chorobach zapalnych jelit i wrażliwości na anestetyki.”

Na osiągnięcie naukowe dr n. med. Marzeny Skrzypczak-Zielińskiej składa się 7 publikacji jednotematycznych opublikowanych w recenzowanych czasopismach z listy *Journal Citation Reports*. Prezentowany cykl publikacji dotyczy ukierunkowanych badań farmakogenetycznych, mających przyczynić się do: i) określenia czynników genetycznych warunkujących odpowiedź na farmakoterapię w nieswoistych chorobach zapalnych jelit (NChZJ) i środki anestetyczne w znieczuleniu ogólnym; ii) lepszego poznania mechanizmów działania leków w NChZJ i najczęściej stosowanych środków anestetycznych oraz iii) polepszenia predykcji i skuteczności leczenia w NChZJ oraz bezpieczeństwa anestezji.

Pierwsza część osiągnięcia naukowego koncentruje się na NChZJ, grupie przewlekłych chorób układu pokarmowego o podłożu autoimmunizacyjnym, charakteryzujących się okresami zaostrzeń i remisji. Wyróżnia się dwie podstawowe jednostki chorobowe, chorobę Leśniowskiego-Crohna (ChL-C) i wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG). Patogeneza NChZJ nie jest dokładnie poznana, lecz wskazuje się na ich wieloczynnikowy charakter. Przyjmuje się, że choroby te rozwijają się u osób predysponowanych genetycznie, u których dochodzi do zainicjowania patologicznych procesów zapalnych pod wpływem różnorodnych czynników spustowych. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zachorowań na NChZJ nie tylko w populacjach o historycznie wysokiej zachorowalności, jak w Europie i USA, ale również w populacjach krajów rozwijających się Azji, Bliskiego Wschodu i Ameryki Łacińskiej. Farmakoterapia w NChZJ obejmująca 5 grup leków: aminosalicylany, glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne (w tym tiopuryny), leki biologiczne oraz antybiotyki. Przewlekły charakter NChZJ zmusza do długotrwałego przyjmowania przez pacjentów leków przeciwzapalnych i immunosupresyjnych. Wyzwanie stanowi trudna do przewidzenia odpowiedź organizmu na terapię, której efekt jest osobniczo-zmienny i w dużej mierze zależy od czynników genetycznych. Podjęta przez Habilitantkę tematyka badań molekularno-genetycznych osobniczo-zmiennego działania leków tiopurynowych, glikokortykosteroidowych oraz terapii biologicznej nakierowanej na blokowanie czynnika martwicy nowotworu alfa (anty-TNF α) w NChZJ jest bez wątpienia oryginalna, nowatorska i istotna, zarówno z naukowego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Badania prowadzono we współpracy z Katedrą i Kliniką Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, kierowaną przez prof. dr hab. n. med. Agnieszkę Dobrowolską. Ta część cyklu publikacji obejmuje 5 pozycji:

Praca 1: *High-resolution melting analysis of the TPMT gene: a study in the Polish population*, będąca próbą określenia czynników genetycznych zaangażowanych w reakcję na leki tiopurynowe u chorych z NChZJ. W badaniu skoncentrowano się na genie S-metylotransferazy tiopuryn (TPMT) kodującym enzym o tej samej nazwie, który jest kluczowy dla metabolizmu leków tiopurynowych i katalizuje proces ich metylacji. Przeprowadzona analiza wykazała, że w populacji polskiej poza powszechnie badanymi allelami TPMT*2, *3A i *3C aktywność enzymu TPMT mogą warunkować również inne allele: TPMT*15, TPMT*35 i TPMT*36. W

przypadku polskich pacjentów należy zatem rozważyć dwustopniową analizę genu TPMT rozszerzoną o całą część kodującą tego genu.

Praca 2: *A Simple Method for TPMT and ITPA Genotyping Using Multiplex HRMA for Patients Treated with Thiopurine Drugs*, w której oceniano przydatność opracowanej techniki multipleks HRMA do oznaczania podstawowych alleli genów metabolizmu leków tiopurynowych. Habilitantka oznaczała loci c.238G>C, c.460G>A, c.719A>G genu TPMT oraz zmianę c.94C>A (p.P32T, rs1127354) genu trifosfatazy inozynowej (ITPA), kodującego drugi istotny enzym szlaku leków tiopurynowych. W badaniu wykazano, że zastosowana technika multipleks HRMA jest czułą i skuteczną metodą do określania loci genów TPMT i ITPA w porównaniu do konwencjonalnych technik genotypowania i może stanowić ich szybką i tanią alternatywę w przypadku planowania terapii lub w trakcie leczenia lekami tiopurynowymi.

Praca 3: *The impact of genetic factors on response to glucocorticoids therapy in IBD*, będąca próbą usystematyzowania dostępnych danych na temat wpływu czynników genetycznych na odpowiedź na leczenie glikokortykosteroidami pacjentów z NChZJ oraz nakreślenia potencjalnych kierunków przyszłych badań z wykorzystaniem nowych technologii, jak sekwencjonowanie następnej generacji (NGS).

Praca 4: *NGS study of glucocorticoids response genes in inflammatory bowel disease patients*, w której analizie poddano panel 21 genów mogących warunkować zjawisko steroido-zależności i steroido-oporności oraz efektów ubocznych terapii glikokortykosteroidami u pacjentów z NChZJ wykorzystując do tego celu technologię NGS. Na podstawie przeprowadzonej analizy w grupie pacjentów z ChL-C zaobserwowano związek wariantu polimorficznego c.2865+49T>C (rs2032583) w genie ABCB1 z opornością na leczenie glikokortykosteroidami. Zależności tej nie zaobserwowano wśród pacjentów z WZJG, co może świadczyć o różnym podłożu reakcji na leczenie glikokortykosteroidami pacjentów z ChL-C i WZJG. Z kolei w badanej grupie pacjentów z WZJG wpływ na odpowiedź na leczenie glikokortykosteroidami miały trzy warianty: c.1088G>A (rs56149945) w genie NR3C1, c.241+6A>G (rs2817033) w genie FKBP5 oraz c.306-7delT (rs61763106) w genie MAPK14.

Praca 5: *Long-Range PCR libraries and Next Generation Sequencing for pharmacogenetic studies of patients treated with anti-TNF drugs*, w której analizie poddano panel 16 genów (TNFRSF1A, TNFRSF1B, ADAM17, CASP9, FCGR3A, LTA, TNF, FAS, IL1B, IL17A, IL6, MMP1, MMP3, S100A8, S100A9 i S100A12) zaangażowanych w działanie, kaskadę ekspresji, transmisję sygnału i metabolizm TNF α , które potencjalnie mogły warunkować efektywność terapii biologicznej anty-TNF α u pacjentów z NChZJ. Analiza wytypowanych genów z użyciem bibliotek amplikonowych i NGS, pozwoliła na wykrycie we wszystkich amplikonach wariantów polimorficznych w łącznej liczbie 592, co potwierdziło wysoką czułość opracowanej metodyki, która może stać się wydajnym narzędziem do szerokich badań farmakogenetycznych leków anty-TNF α .

W ramach prezentowanego osiągnięcia naukowego Habilitantka podjęła również istotną tematykę podłoża genetycznego wrażliwości na powszechnie stosowane w znieczuleniu ogólnym anestetyki, do których należą sewofluran i propofol. Prezentowane badania były prowadzone we współpracy z Oddziałem Anestezjologii i Intensywnej Terapii Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu, kierowanym przez dr hab. n. med. Adama Mikstackiego. Ta część cyklu publikacji obejmuje 2 pozycje:

Praca 6: *Impact of CYP2E1, GSTA1 and GSTP1 gene variants on serum alpha glutathione S-transferase level in patients undergoing anaesthesia*, w której dokonano analizy wpływu zmian polimorficznych w genach GSTA1, GSTP1 i CYP2E1 na międzyosobnicze różnice w funkcjonowaniu komórek wątroby pacjentów po zabiegu w znieczuleniu ogólnym sewofluranem. Za wskaźnik integralności hepatocytów wybrano enzym wątrobowy α -GST, którego poziom w surowicy krwi pacjentów określano metodą ELISA. Wykazano wpływ polimorfizmów genu GSTP1 c.313A>G i c.341C>T na okołooperacyjne stężenie α -GST w surowicy i stan integralności hepatocytów u pacjentów poddawanych znieczuleniu sewofluranem.

Praca 7: *Longrange PCR-based next-generation sequencing in pharmacokinetics and pharmacodynamics study of propofol among patients under general anaesthesia*, w której analizie NGS poddano panel 9 genów (CYP2C9, CYP2B6, UGT1A9, SULT1A1, NQO1, ABCB1, ALB, GABRA1 i ADRA1A) mogących potencjalnie warunkować parametry farmakokinetyczne i farmakodynamiczne propofolu u pacjentów poddanych znieczuleniu ogólnemu. Pomiary stężenia leku w osoczu w różnych punktach czasowych przeprowadzono z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Wykazano, że warianty polimorficzne genów CYP2B6 i ABCB1 silniej korelują z profilem metabolicznym propofolu w porównaniu z pozostałymi 7 badanymi genami i mogą odgrywać potencjalnie istotną rolę we wrażliwości na ten środek anestetyczny.

Na prezentowane osiągnięcie naukowe składa się 7 publikacji monotematycznych z obszaru farmakogenetyki, w tym 6 oryginalnych artykułów i jeden poglądowy, opublikowanych w recenzowanych czasopismach z listy *Journal Citation Reports* w latach 2013-2019. Podjęta przez Habilitantkę tematyka badań molekularno-genetycznych osobniczo-zmiennego działania leków jest oryginalna, nowatorska i istotna, zarówno z naukowego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. **Summaryczna wartość współczynnika wpływu wynosi 18,058 (185 punktów MSWiN), a liczba cytowań wynosi: 17.** W 6 publikacjach cyklu Habilitantka jest autorem korespondencyjnym. Przy każdej z publikacji cyklu Habilitantka określiła swój wiodący wkład, który z zasady obejmował każdy etap procesu badawczego i najczęściej polegał na opracowaniu koncepcji badania, zaplanowaniu układu doświadczalnego, zebraniu materiału biologicznego do badania, przeprowadzeniu niezbędnych analiz i pomiarów, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników badań, przygotowaniu pierwszej i ostatecznej wersji manuskryptu. W swoich oświadczeniach współautorzy publikacji potwierdzili wysoki wkład pracy Habilitantki w przeprowadzone badania. Osiągnięcie naukowe powstało zgodnie z przyjętymi wytycznymi i spełnia wymogi formalne.

Opinia o pozostałych osiągnięciach naukowo-badawczych.

Poza 7 publikacjami wchodzącymi w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe, dr n. med. Marzena Skrzypczak-Zielińska jest autorką 28 prac oryginalnych o łącznym współczynniku wpływu 36,802 i punktacji MSWiN 425, 8 prac poglądowych/kazuistycznych o łącznym współczynniku wpływu 12,422 i punktacji MSWiN 118, 5 rozdziałów o łącznej punktacji MSWiN 20, co daje **łączną wartość współczynnika wpływu 49,224 i punktacji MSWiA 563.** Pierwszym lub równorzędnym autorem jest w 6 publikacjach (łączny współczynnik wpływu 1,842, punktacja MSWiA 35), a autorem drugim, ostatnim lub korespondencyjnym jest w 7 publikacjach (łączny współczynnik wpływu 4,973, punktacja MSWiA 59). **Indeks Hirscha wg Web of Science całkowitego dorobku wynosi 7, a liczba cytowań wynosi 143 (bez autocytaowań- 136).** Tematyka

badawcza najczęściej podejmowana przez Habilitantkę w publikacjach dotyczy i) zmienności genetycznej bliźniąt, ii) czynników genetycznych warunkujących NChZJ oraz współwystępowanie z nimi osteoporozy, iii) czynników genetycznych zaangażowanych w rozwój nowotworów jelita grubego, żołądka i tarczycy, oraz w ostatnim czasie iv) farmakogenetycznego wpływu kannabinoidów na organizm człowieka.

W swej dotychczasowej karierze dr n. med. Marzena Skrzypczak-Zielińska samodzielnie kierowała jednym projektem badawczym „Farmakogenetyka leków tiopurynowych u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit - zastosowanie najnowszych metod sekwencjonowania DNA do pogłębionej analizy czynników genetycznych zaangażowanych w reakcję na leczenie (2016/23/D/NZ2/01620 finansowanym przez MNiSW 2017-2020), a w 5 projektach brała udział jako wykonawca (PW/7/U/2018, ONKOKAN - INNOMED/I/11/NCBR/2014, MEDPIG - INNOMED/I/17/NCBR/2014, N N401 037838, N N303 457238). Dwa z tych interdyscyplinarnych projektów, MEDPIG i ONKOKAN, prowadzone były w ramach dużych konsorcjów/sieci badawczych angażujących renomowane instytucje krajowe. Na uwagę zasługuje fakt, że Habilitantka ma na swoim koncie również jedno zgłoszenie patentowe: *“Detecting mutations involving trinucleotide repeat sequences in genomic DNA comprises amplifying a section of the DNA and analyzing the product by denaturing HPLC”* w Europejskim Urzędzie Patentowym (nr DE20071057340).

Habilitantka brała czynny udział w licznych konferencjach w kraju i zagranicą, a za swoją działalność naukową została trzykrotnie nagrodzona prestiżowymi stypendiami wyjazdowymi przez *European Society of Human Genetics*. Ze względu na swe doświadczenie i wiedzę w obszarze genetyki medycznej Habilitantka była również zaproszona do recenzowania publikacji w tak renomowanych czasopismach naukowych, jak *PLOS ONE* czy *Personalized Medicine*. Habilitantka jest aktywnym członkiem w takich organizacjach, jak Niemieckie Towarzystwo Genetyki Człowieka, Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych, Stowarzyszenie Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w Polsce i Polskie Towarzystwo Genetyki Człowieka.

Opinia o pozostałych osiągnięciach dydaktycznych i popularyzatorskich.

Habilitantka dała się poznać również jako osoba wypełniająca swoje obowiązki dydaktyczne z dużym zaangażowaniem. W latach 2009-2019 była promotorem 7 prac inżynierskich oraz 13 prac magisterskich (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Katedra Biochemii i Biotechnologii). W okresie tym pełniła również funkcję promotora pomocniczego lub opiekuna naukowego w 4 przewodach doktorskich. Dodatkowo Habilitantka angażowała się w inne aktywności dydaktyczne i popularyzatorskie jako wykładowca i szkoleniowiec, prowadząc kursy i szkolenia z zakresu genetyki dla różnych grup odbiorców, w tym przedsiębiorców i dzieci.

Podsumowanie.

Biorąc pod uwagę osiągnięcie naukowe oraz aktywność naukową, a także dobrą oceną innych elementów działalności Habilitantki uważam, że osiągnięcia dr n. med. Marzena Skrzypczak-Zielińska spełniają kryteria określone w Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.). Osiągnięcia naukowe Habilitantki mają istotne implikacje praktyczne, dorobek naukowy Habilitantki jest ukierunkowany, co świadczy o konsekwentnie realizowanej ścieżce badawczej. Wobec powyższego jako

recenzent powołany przez Centralną Komisję ds. Stopni i Tytułów, przedkładam pozytywną opinię i popieram wniosek o wystąpienie o nadanie dr n. med. Marzenie Skrzypczak-Zielińskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.



Dr hab. n. med. Jacek Karczewski