



WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA
Uniwersytet Łódzki



Prof. dr hab. Antoni Różalski

Katedra Biologii Bakterii

Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii

Recenzja

osiągnięcia naukowego, dorobku naukowego, dydaktycznego, organizacyjnego
i popularyzatorskiego w postępowaniu habilitacyjnym

dr inż. Jadwigi Pietkiewicz

z Katedry i Zakładu Biochemii Lekarskiej

Wydziału Lekarskiego, Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Dr inż. J. Pietkiewicz jest zatrudniona na etacie starszego wykładowcy w Katedrze i Zakładzie Biochemii Lekarskiej Wydziału Lekarskiego, Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Wcześniej w latach 1988-2007 pracowała w tym Zakładzie na etacie adiunkta, a w latach 1982-1987 asystenta naukowo-dydaktycznego. Na początku swojej kariery zawodowej pracowała w tej jednostce w latach 1976-1982 na stanowisku pracownika naukowo-technicznego. Kandydatka uzyskała w 1976 tytuł magistra inżyniera technologii związków powierzchniowo-czynnych i lekkiej syntezy organicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej, na podstawie pracy „Synteza wybranych polichloroterpenów” (promotor doc. dr inż. Stanisław Witek). W 1987 r. uzyskała stopień naukowy doktora nauk przyrodniczych na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej we Wrocławiu na podstawie rozprawy pt. „Enolaza z mięśni karpia (*Cyprinus carpio*)”. Pracę doktorską wykonała pod opieką promotorską doc. dr hab. Mariana Wolnego.

Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę habilitacji

Dr inż. Jadwiga Pietkiewicz wskazała, zgodnie z obecnie obowiązującą *Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowych oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki* jako

osiągnięcie naukowe, stanowiące znaczny wkład autora w rozwój określonej dyscypliny naukowej, cykl publikacji składający się z 8 prac doświadczalnych i 2 artykułów przeglądowych. Tytuł osiągnięcia „Enolaza: nowe oblicze znanego białka.” Prace wchodzące w skład zbioru stanowiącego osiągnięcie naukowe zostały opublikowane w latach 1991-2018, a więc w ciągu 27 lat. Wywołuje to u mnie zdziwienie, nie spotkałem się bowiem z wyborem publikacji do zbioru stanowiącego osiągnięcie naukowe habilitanta z tak dużego przedziału czasowego pracy badawczej. Oczywiście, moje uwaga formalnie nie jest zastrzeżeniem, nie ma bowiem przeszkód, aby tak postąpić. Tym bardziej, iż publikację stanowią zwartą tematycznie całość. Prace oryginalne, doświadczalne zostały opublikowane w języku angielskim, artykuły przeglądowe w języku polskim. 7 prac doświadczalnych opublikowano w czasopismach z listy JCR, a jedna praca oryginalna została opublikowana w czasopiśmie spoza tej listy. Dwa artykuły przeglądowe zostały opublikowane także w czasopismach spoza listy JCR. łączny IF tych publikacji wynosi 6,958, a liczba punktów w klasyfikacji czasopism MNiSW 107. Wartości te nie są wysokie biorąc pod uwagę, liczbę 10 prac zgłoszonych jako osiągnięcie naukowe. Sądzę, iż na to ma wpływ bardzo długi okres publikacji wskazanych prac oraz wybór miejsca publikacji wyników badań. Opublikowano je w czasopismach o niskich wartościach IF. Biorąc pod uwagę, iż są to prace z wynikami badań z zakresu biochemii, należało się spodziewać lokowania ich w lepszych czasopismach o wyższych współczynnikach bibliometrycznych.

Enolaza to białko o wielu funkcjach biologicznych, występujące w różnych miejscach komórki. Jako ważny enzym glikolizy odpowiada za przekształcenie 2-fosfoglicerynianu do fosfoenolopirogronianu. Ale działa też w szlaku anabolicznym. Celem badań Kandydatki przedstawionych w osiągnięciu naukowym było wykazanie, iż enolaza pełni u wielu organizmów nie tylko rolę enzymu, ale też jako białko bez funkcji katalitycznych odgrywa znaczącą rolę biologiczną. Cele szczegółowe tych badań to określenie funkcji biokatalitycznych enzymu, nie tylko w ustroju człowieka, ale i innych organizmów, a także ustalenie roli białka w komórkach prawidłowych i patologicznych. Trzeci cel badań to analizy immunochemiczne, które dotyczyły izoenzymów enolazy.

Dr inż. J. Pietkiewicz porównała enolazy pochodzące z odległych ewolucyjnie organizmów z mięśni człowieka i bakterii *Klebsiella pneumoniae*. Stwierdzono różnice

aktywności specyficznej enzymu, wartości optimum pH i w poziomie efektywności katalitycznej; bardziej efektywna była enolaza z mięśni człowieka. Wykazano też znaczenie jonów magnezu oraz w mniejszym stopniu cynku i manganu dla aktywności enolazy pochodzącej obu źródeł. Zbadano też wpływ fosforanów i fluorków na działanie enzymu. W kolejnej pracy Habilitantka opisała wyniki badań enolazy z mięśni karpia. Badania dotyczyły identyfikacji aminokwasów mających szczególne znaczenie w aktywności enzymu. Dr inż. J. Pietkiewicz wykazała, iż w działaniu enolazy karpia ważną rolę odgrywają reszty argininy. W następnej pracy osiągnięcia naukowego Habilitantka ustaliła, iż hydrolizie wiązań peptydowych pomiędzy arginina a innymi aminokwasami w obecność trypsyny, towarzyszy utrata aktywności enzymatycznej białka z karpia. Inny efekt obserwowano, kiedy do trawienia wykorzystano chomotrypsynę. Zaobserwowano też różnice w działaniu tych enzymów trawiennych na enolazę karpia i mięśni wieprzowych.

Habilitantka zbadała też proces glikacji enolazy mięśni człowieka wykazując, iż w obecności metyloglioksalanu pojawiają się w tych warunkach nowe produkty AGE (Advanced Glycation End Products). Są one odporne na degradację proteolityczną trypsyną, co należało wiązać z zablokowaniem reszt lizyny i argininy w białku w wyniku modyfikacji przez metyloglioksalan. W kolejnym etapie badań nad glikacją enolazy mięśni wieprzowych i ludzkich zastosowano drobnocząsteczkowe reaktywne związki karbonylowe z grupy α -oksoaldehidów i 2-alkenali. Sprawdzone efekt ich działania w stosunku do enzymu. Stwierdzono różnicę w wydajności glikacji w obecności oby tych typów związków chemicznych, w porównaniu do wydajności w środowisku z metyloglioksalanem.

Jako wspominałem wyżej, drugi nurt badań Habilitantki dotyczył roli enolazy na powierzchni błon komórkowych różnych organizmów. Dr inż. J. Pietkiewicz uzyskała przeciwciała przeciwko enolazie mięśni człowieka. Posługując się tymi przeciwciałami stwierdziła podobieństwo epitopów w enzymie ludzkim, do epitopów występujących w enolazie *K. pneumoniae*, *Hafnia alvei* i *Shigella flexnerii*. W badaniach szczegółowych Habilitantka stwierdziła występowanie wspólnych, identycznych krótkich sekwencji w C-końcowej domenie enolazy z mięśni człowieka i *K. pneumoniae*. Jest to ważna obserwacja, gdyż ona wskazuje na możliwą molekularną mimikrę antygenową, skutkującą unikaniem przez bakterie mechanizmów obronnych gospodarza podczas infekcji. Przeciwciała

przeciwko enolazie mięśni człowieka wykorzystano także do lokalizacji enzymu w komórkach nowotworowych i prawidłowych. Stwierdzono, zwiększone stężenie enzymu w obszarze wokół jądrowym komórek linii nowotworowej mięsaka szczurzego, w porównaniu z prawidłowymi kardiomiocytami.

Dr inż. J. Pietkiewicz w badaniach determinant antygenowych izoenzymów enolazy zastosowała królicze przeciwciała przeciwko α -enolazie lub β -enolazie. Przeciwciała te nie reagowały krzyżowo. W badaniach mających na celu zidentyfikowanie wiązanych przez te przeciwciała epitopów, zastosowano syntetyczne peptydy. Ustalono, iż przeciwciała przeciwko α -enolazie wiążą 11 aminokwasowy fragment enzymu, z jego końca C.

Podsumowując osiągnięcie naukowe dr J. Pietkiewicz można stwierdzić, iż uzyskała ona wyniki potwierdzające zbliżone właściwości enolaz z różnych nawet odległych ewolucyjnie organizmów. Przyczyniła się do pogłębienia wiedzy o znaczeniu tego enzymu w procesie glikolizy. Wskazała na podobieństwo antygenowe enolazy z bakterii *K. pneumoniae* z enolazą z mięśni człowieka, co może być przyczyną mimikry antygenowej i unikania mechanizmów obronnych gospodarza podczas infekcji tymi bakteriami. Zidentyfikowała epitop nadający swoistość antygenową izoenzymu α oraz wykazała różnice w występowaniu enolazy w komórkach prawidłowych i nowotworowych. Prace oryginalne uzupełniają 2 publikacje przeglądowe na temat enolazy z komórek eukariotycznych i prokariotycznych oraz procesów glikacji.

Prace stanowiące osiągnięcie naukowe dr inż. J. Pietkiewicz zostały opublikowane ze współautorami. W wykazie publikacji habilitantka przedstawiła swój udział w pracach wieloautorskich. Udział ten obejmował opracowanie koncepcji badań oraz wykonanie części badań eksperymentalnych. Ma też znaczący udział w analizie i interpretacji wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptów do publikacji. Habilitantka ustaliła swój udział na 40-80%. Współautorzy publikacji podali w stosowanych oświadczeniach swój wkład w badaniach, które Habilitantka przedstawiała jako osiągnięcie naukowe. Oświadczenia współautorów są wyczerpujące. Ich wkład w powstanie tych prac polegał na współudziale w projektowaniu badań, wykonaniu konkretnych oznaczeń lub analiz, udziale w redakcji manuskryptów prac i był to udział zdecydowanie mniejszy w porównaniu z wkładem Habilitantki.

Nie mam zastrzeżeń odnośnie do merytorycznego wyboru publikacji do zbioru stanowiącego osiągnięcie badawcze Habilitantki. Jest on zwarty, spełnia wymogi ustawowe. Wyniki badań stanowiące osiągnięcie naukowe dr J. Pietkiewicz są oryginalne. Wzbogaciły naszą wiedzę o enolazach pochodzących z różnych organizmów.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Pozostały dorobek naukowy dr J. Pietkiewicz obejmuje 25 publikacji, w tym 18 publikacji oryginalnych z ustalonym IF i 4 prace oryginalne bez ustalonego IF. Dorobek ten wzbogacony jest o 3 prace przeglądowe oraz 11 rozdziałów w monografiach, 5 referatów na konferencjach oraz 27 streszczeń wystąpień na konferencjach międzynarodowych i 36 krajowych. Jak widać z tego zestawienia liczbowo dorobek ten jest bogaty.

Przed doktoratem Habilitantka brała udział w badaniach kinazy pirogronianowej, w tym zdolności tego enzymu do tworzenia kompleksów z kwasami rybonukleinowymi. Później zajęła się przede wszystkim enolazą, izolacją tego enzymu z mięśni karpi i jego charakterystyką molekularną oraz w zakresie kinetyki, a także porównaniem tej enolazy z innymi enolazami ssaków i drożdży. Kandydatka wskazała na szczególnie ważne aminokwasy w aktywności katalitycznej enolazy.

Po uzyskaniu stopnie naukowego doktora J. Pietkiewicz kontynuowała badania enolaz otrzymanych z różnych organizmów bakterii *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, ludzkich komórek raka piersi, czy nerki ludzkiej. Ustaliła lokalizację tego enzymu w komórkach i sposoby jego wydzielania. W przypadku *P. aeruginosa* nie stwierdzono obecności w komórkach enolazy, gdyż bakteria ta nie wykorzystuje szlaku EMP (Embdena-Meyerhofa-Parnasa, ale szlak ED (Entnera-Doudoroffa). W tych bakteriach Habilitantka wykryła białko enolazopodobne, zdolne do wiązania plazminogenu ludzkiego.

Dr inż. J. Pietkiewicz uczestniczyła też w badaniach LPS (lipopolisacharyd, endotoksyna) *Hafnia alvei* PCM1224. Analizowała O-swoisty polisacharyd tych bakterii, będący częścią LPS. Badała jego właściwości antygenowe oraz reaktywność krzyżową surowicy przeciwko temu antygenowi z LPS innych szczepów tego gatunku. Badała też rolę glicyny, niecukrowego składnika rdzenia LPS bakterii i jego rolę jako czynnika blokującego aktywność glikozylaz wobec LPS podczas infekcji. W badaniach tych uzyskano syntetyczne

glicynowane glikokonjugaty. Badano ich reakcje ze swoistymi surowicami anty-LPS, bogatymi we frakcję przeciwciał przeciwko rdzeniowi tego heteropolimeru.

Kolejne badania podjęte przez Habilitantkę dotyczyły możliwości udziału kwaso-, lub alkali-labilnych fosforanów, będących podstawnikami łańcucha cukrowego LPS, w fosforylacji nieenzymatycznej białka. Potwierdzono taką możliwość. Dr J. Pietkiewicz brała też udział w badaniach właściwości syntetycznych pochodnych produktów zaawansowanej glikacji (AGE), a także uczestniczyła w projekcie, którego celem była opracowanie i analiza nowych systemów transportu terapeutyków z wykorzystaniem nanotransporterów. Habilitantka podjęła też współpracę z Kliniką Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej oraz Kliniką Psychiatrii w celu wykorzystania metod wykrywania AGE do diagnostyki i zapobiegania cukrzycy oraz chorób o charakterze demencji.

Dane bibliometryczne: łączna liczba publikacji Habilitantki – 35; łączny IF publikacji – 48,372, liczba pkt. KBN/MNSW – 562, Liczba cytowań wg WoS bez autocytowań 280; Indeks Hirscha 11.

Habilitantka ma w swoim dorobku także 4 patenty. Kierowała jednym grantem finansowanym ze źródeł zewnętrznych, była wykonawcą w 3. Realizowała też granty finansowane przez macierzystą uczelnię. Wygłaszała wykłady na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Ma udział w organizacji międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych. Recenzowała prace naukowe przesłane do polskich i zagranicznych wydawnictw. Jest członkinią Polskiego Towarzystwa Biochemicznego.

W autoreferacie Habilitantka wskazała chęć kontynuacji w przyszłości badań enolazy jako białka powierzchniowego i jej roli biologicznej. Zamierza także kontynuować, we współpracy z klinicystami, analizę produktów glikacji białek w kontekście cukrzycy i chorób otępiennych oraz badać możliwość wykorzystania nanotransporterów jako nośników biologicznie czynnych substancji. Te badania prowadzić będzie, jak dotychczas we współpracy z Politechniką Wrocławską, Instytutem Immunologii i Terapii PAN we Wrocławiu i klinicystami z UM z tego miasta.

Podsumowując dorobek naukowy dr J. Pietkiewicz należy stwierdzić, iż jest on wieloaspektowy i wartościowy; w moim przekonaniu spełnia wymagania dotyczące ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz organizacyjny

Habilitantka legitymuje się bogatym dorobkiem dydaktycznym. Prowadziła lub prowadzi zajęcia, seminaria i fakultety z biochemii dla studentów Wydziału Lekarskiego UM we Wrocławiu, zajęcia laboratoryjne z diagnostyki laboratoryjnej i biochemii z elementami toksykologii dla studentów Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Jest współautorką skryptów ćwiczeniowych do tych zajęć. Opracowała też szereg programów zajęć dydaktycznych. Opiekowała się studentami pracującymi w kole naukowym, studentami stażystami oraz magistrantami, a także doktorantami (nie podano, czy w charakterze promotora pomocniczego).

Podsumowanie i Wniosek końcowy

Dr inż. J. Pietkiewicz przedstawiła osiągnięcie naukowe stanowiące znaczny wkład autora w rozwój badań cykl publikacji na temat enolazy różnych organizmów. W pracach tych dokonała charakterystyki tego enzymu, jego funkcji biokatalitycznych, znaczenia tego białka podczas ekspozycji na powierzchni komórek prawidłowych i patologicznych oraz jego swoistości antygenowej. Prace składające się na to osiągnięcie są merytorycznie wartościowe i zostały opublikowane w większości w czasopismach z IF o międzynarodowym zakresie dostępności. Pozostały dorobek naukowy Habilitantki jest też wartościowy. Wykazała się także znaczącym dorobkiem dydaktycznym oraz osiągnięciami w zakresie działalności popularyzatorskiej oraz współpracy naukowej. W moim przekonaniu Dr inż. J. Pietkiewicz wypełnia wymogi stawiane habilitantom zawarte w Ustawie o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14.03.2003 r. z późniejszymi zmianami, a także ustawą z dnia 20.07.2018 „Prawo o szkolnictwie wyższym”. Biorąc to pod uwagę przedstawiam pozytywną opinię w sprawie nadania jej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauki medycznej w dyscyplinie biologia medyczna.

Łódź, 29 listopada 2019 r.

J. Pietkiewicz