

Zabrze, 20.12.2019 r.

Prof. dr hab. med. Mariusz Gąsior  
Kierownik III Katedry i Oddziału Klinicznego Kardiologii SUM,  
Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu

V I D I I  
07.01.2020  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE  
przewodniczący  
prof. dr hab. Grzegorz Mazur

*Ocena osiągnięcia naukowego dr Anety Iwony Radziwon-Balickiej pt.*

**„Rola płytek krwi w procesach fizjologicznych i patologicznych”**

### **Informacje ogólne**

Dr Aneta Radziwon-Balicka jest absolwentką Akademii Medycznej w Gdańsku, gdzie w 2002 roku ukończyła studia magisterskie na Wydziale Farmaceutycznym i rozpoczęła pracę w Katedrze Chemii Medycznej. W 2005 roku uzyskała 6-miesięczne stypendium Leonardo da Vinci w szpitalu Letterkenny w Irlandii. W dalszym etapie podjęła pracę w aptece szpitalnej w Mayo General Hospital w Castelbar. Studia doktoranckie rozpoczęła 2007 roku w Katedrze Farmakologii, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Trinity College Dublin w ramach stypendium ufundowanego przez Trinity College w latach 2007-2010. Obszarem naukowym pracy doktorskiej były interakcje pomiędzy komórkami nowotworowymi, a płytkami krwi. Po ukończeniu przewodu doktorskiego odbyła staż w laboratorium Uniwersytetu Alberta w Edmonton w Kanadzie. W ostatnich latach jest członkiem grupy badawczej Glostrup Research Institute, Rigshospitalet/Glostrup Hospital badającej patofizjologię układu naczyniowego po incydencie udarowym. W zakresie działalności dydaktycznej nadzorowała pracę laboratoryjną pięciu studentów w projektach badawczych ostatniego roku studiów farmaceutycznych w Trinity College Dublin. Podobnie była opiekunem studentów farmacji i farmakologii w projektach badawczych w laboratorium w University of Alberta, Edmonton. Aktywnie uczestniczyła zajęciach dydaktycznych przeprowadzając wykłady dla studentów farmacji w Irlandii i Kanadzie. Była zapraszana do wygłoszenia referatów na licznych międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych. W latach 2013-2014 w ramach opieki nad doktorantami pełniła funkcję opiekuna naukowego Gabriela Lasyk „Developig novel assays to measure the effect of exogenous nitric oxide on the reactivity of human platelet subpopulations” - University of Alberta, Edmonton, Canada. Dodatkowo była opiekunem naukowym dwóch prac magisterskich oraz w czterech przypadkach opiekunem naukowym stażów wakacyjnych. Jest

recenzentem w czasopismach naukowych z listy filadelfijskiej - Canadian Journal of Pathology and Pharmacology, Critical Care Medicine I British Journal of Pharmacology. O ugruntowanej pozycji naukowej świadczy praca w redakcjach czasopism naukowych Mediators of Inflammation oraz Oxidative Medicine and Cellular Longevity (obecnie Hindawi) gdzie jest redaktorem z uprawnieniami do przyjmowania prac do druku. Jest członkiem Polskiego i Irlandzkiego Towarzystwa Farmaceutycznego oraz Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego.

### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dr Anety Radziwon-Balickiej jest cyklem pięciu publikacji obejmujących tematykę „Roli płytek krwi w procesach fizjologicznych i patologicznych”.

1. Aneta Radziwon-Balicka, Gabriela Lesyk, Valentina Back, Teresa Fong, Loreda Calderon EL, Bin Dong, Haitham El-Sikhry, Ahmed El-Sherbani, Ayman El-Kadi, Stephan Ogg, Siraki A, John Seubert, Maria Jose Santos-Martinez, Marek Radomski, Velazquez-Martinez CA, Ian Winship, and Paul Jurasz. Differential eNOS-signalling by platelet subpopulations regulates adhesion and aggregation. Cardiovascular Research. 2017 Dec 1;113(14):1719-1731.
2. Radziwon-Balicka A, Ramer C, Moncada de la Rosa C, Zielnik-Drabik B, Jurasz P. Angiostatin inhibits endothelial MMP-2 and MMP-14 expression: A hypoxia specific mechanism of action. Vascul Pharmacol. 2013 Apr;58(4):280-291.
3. A Radziwon-Balicka, C Moncada de la Rosa, B Zielnik-Drabik, A Doroszko, P Jurasz. Temporal and Pharmacological Characterization of Angiostatin Release and Generation by Human Platelets: Implications for Endothelial Cell Migration. PLOS One. 2013;8(3).
4. Moncada de la Rosa Cesar, Radziwon-Balicka Aneta, Haitham El-Sikhry Haitham, Seubert John, Ruvolo Peter, Radomski Marek, Jurasz Paul. Pharmacological PKC $\alpha$  Inhibition Uncouples Human Platelet-Stimulated Angiogenesis from Collagen-Induced Aggregation. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2013 Apr;345(1):15-24.
5. Aneta Radziwon-Balicka, Maria Jose Santos-Martinez, Juan Jose Corbalan, Shane O'Sullivan, Achim Treumann, Gilmer JF, Marek W Radomski, Carlos Medina. Mechanisms of Platelet-Stimulated Colon Cancer Invasion: Role of Clusterin and

Thrombospondin-1 in Regulation of the P38MAPK-MMP-9 Pathway. *Carcinogenesis*. 2014 Feb;35(2):324-332.

Łączny impact factor przedstawionych publikacji wynosi 23,633 punktów. Warto zauważyć, że w czterech pracach Kandydatka jest pierwszym autorem, a w jednej drugim. Dodatkowo udział procentowy w powstaniu prac został odpowiednio oceniony na 70%, 75%, 45%, 80% i 75%.

W pierwszej pracy „*Differential eNOS-signalling by platelet subpopulations regulates adhesion and aggregation*” opublikowanej w *Cardiovascular Research* (2017) dr Aneta Radziwon-Balicka oceniała produkcję tlenu azotu przez ludzkie płytki krwi, istnienie odrębnych subpopulacji płytek krwi w oparciu o ich zdolność do wytwarzania i reagowania na tlenek azotu oraz ich rolę w hemostazie. Dzięki opracowaniu odpowiedniego protokołu cytometrii przepływowej możliwe stało się wykrywanie tlenu azotu i identyfikacja w zdrowej ludzkiej krwi dwóch subpopulacji płytek krwi. Jedna subpopulacja nie wytwarzająca tlenu azotu bądź z niskim poziomem jego ekspresji, w przeciwieństwie do drugiej wytwarzającej tlenek azotu. Dzięki temu istnieje równowaga płytek krwi, która utrzymuje hemostazę. Autorka postawiła hipotezę, że dwie subpopulacje płytek mają różne role funkcjonalne w reakcjach hemostatycznych inicjując reakcje zakrzepowe i ograniczając rozmiar zakrzepu. Dodatkowo sugeruje, że osoby z niskim stosunkiem eNOS-pozytywnych do negatywnych płytek krwi mogą być zagrożone udarem niedokrwiennym mózgu lub zawałem mięśnia sercowego. Wyniki tej pracy mogą znacząco wpłynąć na rokowanie chorych poprzez wczesną ich identyfikację z przewidywaniem ryzyka wystąpienia.

Choroby sercowo naczyniowe stanowią główną przyczynę zgonu. Możliwości terapeutyczne w obrębie naczyń wieńcowych i obwodowych w przypadku rozwinięcia się istotnych zmian miażdżycowych oprócz optymalnej farmakoterapii obejmują rewaskularyzację. Niestety część chorych nie może być poddana tej metodzie leczenia. Potencjalnie opcją badaną od wielu lat jest neoangiogeneza terapeutyczna. Do niedawna rola płytek krwi pozostawała niedoceniana. Natomiast płytki krwi wydzielają zarówno czynniki pro- i antyangiogenne podczas ich aktywacji, dlatego mają zdolność do zmiany stężenia i równowagi lokalnych regulatorów angiogenezy. Jak zwraca uwagę Kandydatka badania dotyczące angiogenezy nie wykazały jednoznacznie skuteczności tej metody jako alternatywy dla dotychczasowej terapii. Potencjalnym powodem może być brak hamowania endogennych negatywnych regulatorów angiogenezy. Po odkryciu, że płytki krwi zawierają angiostatynę, która jest uwalniana podczas

agregacji i ma zdolność do hamowania angiogenezy, kolejne prace Kandydatki skoncentrowały się na badaniu mechanizmów regulujących uwalnianie angiostatyny płytkowej i jej działania. W pracy „*Angiostatin inhibits endothelial MMP-2 and MMP-14 expression: A hypoxia specific mechanism of action*” (2013) badała wpływ angiostatyny na migrację komórek śródbłonka i apoptozę podczas hipoksji. Wykazała, że zależna od MMP migracja HMVEC-L jest hamowana przez angiostatynę w warunkach niedotlenienia. Podobny wynik uzyskała dla MMP-14 na poziomie genetycznym i białkowym. W badaniu tym Kandydatka wykazała nowy antyangiogeny mechanizm działania angiostatyny, który jest wyzwalany w warunkach hipoksji. W kolejnej pracy dotyczącej angiostatyny „*Temporal and Pharmacological Characterization of Angiostatin Release and Generation by Human Platelets: Implications for Endothelial Cell Migration*” (2013) badała charakterystykę czasowego i farmakologicznego uwalniania angiostatyny oraz jej wpływ na migrację komórek śródbłonka, podczas wczesnego etapu angiogenezy w obecności kwasu acetylosalicylowego. W porównaniu z VEGF, wytwarzanie angiostatyny i uwalnianie jej podczas agregacji płytek krwi. W efekcie czynniki uwolnione podczas aktywacji płytek krwi stymulowały migrację komórek śródbłonka. Ponieważ leki p/płytkowe hamują wydzielanie VEGF mają negatywny wpływ na migrację komórek śródbłonka w obecności czynników uwolnionych podczas aktywacji płytek krwi. Zatem angiostatyna może być istotnym inhibitorem endogennej angiogenezy wraz z czynnikami stymulującymi i odgrywać rolę w angiogenezie terapeutycznej. Uzupełnieniem prac dotyczących roli płytek krwi w angiogenezie jest badanie „*Pharmacological PKC $\alpha$  Inhibition Uncouples Human Platelet-Stimulated Angiogenesis from Collagen-Induced Aggregation. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*” (2013) dotyczące selektywnej inhibicji PKC, która mogłaby hamować wydzielanie czynników angiogenezy z  $\alpha$ -ziarnistości ograniczając angiogenezę stymulowaną przez płytki krwi. Płytki krwi były agregowane w obecności konwencjonalnych inhibitorów PKC: peptydu myr-FARKGALRQ i Ro 32-0432. Oba inhibitory w niskich stężeniach hamowały uwalnianie ziarnistości, ale nie agregację oraz hamowały uwalnianie VEGF bardziej niż wydzielanie trombospodiny-1 z płytek krwi. Istnieje zatem sugestia, że modulowanie sekrecji płytek krwi przy angiogenezie, może być opcją terapeutyczną ze zmniejszeniem krwawień. Może to mieć znaczenie dla regulowania angiogenezy nowotworowej przy zachowaniu hemostazy.

Ostatnią pracą prezentowaną w cyklu jest „*Mechanisms of Platelet-Stimulated Colon Cancer Invasion: Role of Clusterin and Thrombospondin-1 in Regulation of the P38MAPK-MMP-9 Pathway*” (2014), w której Kandydatka oceniała rolę różnych szlaków kinazy białkowej

aktywowanej mitogenem (MAPK) w obecności płytek i przyczyniają się do inwazji nowotworu jelita grubego. Praca ta podejmuje ważny temat, ponieważ interakcje pomiędzy komórkami nowotworowymi, a płytkami krwi są kluczowe dla krwiopochodnego rozprzestrzeniania się nowotworów. W pracy stwierdzono, że płytki krwi wpływały na fosforylację p38MAPK i regulację MMP-9 w obu liniach komórkowych, z późniejszymi efektami inwazyjności komórek. Zahamowanie p38MAPK doprowadziło do znacznego obniżenia poziomu MMP-9 i inwazyjności nowotworu jelita grubego. Dodatkowo, że wydzielane z płytek krwi TSP-1 i klastryna wspierają regulację sygnału MMP-9 w inwazji nowotworu jelita grubego. Wyniki te mogą mieć znaczenie w pracach nad metodami ograniczającymi ekspansję komórek nowotworowych gruczolakoraka jelita grubego.

Przedstawiany cykl prac rozprawy habilitacyjnej uważam za ważny z punktu widzenia medycyny translacyjnej, mogący w przeszłości przełożyć się na postępowanie kliniczne i wpłynąć na rokowanie chorych w schorzeniach, które stanowią główny obszar zainteresowania współczesnej medycyny.

### **Pozostała działalność naukowa**

Działalność naukowa Dr Aneta Radziwon-Balicka nie ograniczała się tylko do prac omówionych przedstawianych w cyklu osiągnięcia naukowego. Liczba punktów poza rozprawą habilitacyjną wynosi 51,421 IF i 434 pkt MNiSW i obejmuje między innymi 14 pełnotekstowych prac oryginalnych oraz dwie pogładowe w czasopismach posiadających impact factor. Łączny dorobek naukowy to 75,054 punktów IF i 614,0 MNiSW. Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS): **240** Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS): **8**

Najważniejsze obszary naukowe będące tematyką powyższego dorobku obejmują dodatkowo rolę płytek krwi w przeżyciu i chemioterapii komórek nowotworowych („*Platelets decrease chemotherapy-induced cancer cell damage by increasing cell survival: mechanisms and significance. British Journal of Pharmacology, 2012*”, „*STAT3 but not HIF-1 $\alpha$  is important in mediating hypoxia-induced chemoresistance in MDA-MB-231, a triple negative breast cancer cell line. Cancers. October 2017*” czy opracowanie metody cytometrii przepływowej w celu ilościowego wykrywania ekspresji receptorów w tkankach stałych (*A novel multicolor flow-cytometry application for quantitative detection of receptors on vascular smooth muscle cells. PLOS One 2017*”).

## Podsumowanie

Przedstawiony dorobek dr Anety Radziwon-Balickiej świadczy, iż jest w pełni ukształtowanym pracownikiem naukowym z bogatym i wartościowym dorobkiem. Cykl prac składający się na rozprawę habilitacyjną zawiera szereg ważnych, oryginalnych danych wzbogacających naszą wiedzę eksperymentalną dotyczącą roli płytek krwi w obszarze sercowo-naczyniowym i onkologii. Uważam, że Kandydatka spełnia warunki jakie stawia się samodzielnemu pracownikowi naukowemu i wnoszę do **Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu** o dopuszczenie doktor Anety Radziwon-Balickiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

K I E R O W N I K  
III Katedry i Oddziału Klinicznego Hematologii  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Mariusz Gašior