

Ocena osiągnięć naukowych i istotnej aktywności naukowej dr n. med. Anety Ścieżyńskiej

1. Przebieg pracy zawodowej

Dr n. biol. Aneta Ścieżyńska w roku 2011 ukończyła biotechnologię na Międzyuczelnianym Studium Biotechnologii SGGW w Warszawie. W latach 2011–15 Kandydatka była doktorantem Studium Medycyny Molekularnej WUM. W roku 2017 obroniła z wyróżnieniem rozprawę doktorską pt. „Zastosowanie sekwencjonowania następnej generacji w celu identyfikacji i charakterystyki profilu mutacji genu ABCA4 u pacjentów z dziedzicznymi chorobami siatkówki” wykonaną pod kierunkiem dr hab. Moniki Ołdak. Kandydatka w roku 2015 uzyskała dyplom diagnosty laboratoryjnego. Dr Ścieżyńska w czasie swojego rozwoju zawodowego pracowała w kilku instytucjach naukowych w Warszawie: 31.08.17–30.06.22 główny specjalista ds. inżynieryjno-technicznych w Zakładzie Medycyny Regeneracyjnej, Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii; 01.10.21–30.06.22 adiunkt dydaktyczny w Collegium Medicum Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego; 01.09.2022–31.07.2023 diagnosta laboratoryjny w Zakładzie Biologii Medycznej Narodowego Instytutu Kardjologii im. Stefana Kardynała Wyszyńskiego Państwowego Instytutu Badawczego. Jednakże zasadniczym miejscem pracy Kandydatki od roku 2014 jest Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie zatrudniona jest obecnie na stanowisku adiunkta.

2. Ocena osiągnięć naukowych

2.1. Ocena podstawowego osiągnięcia pt. „Zastosowanie komórek skóry jako modelu do badań molekularnego podłoża chorób siatkówki wywoływanych mutacjami genu ABCA4”.

Podstawę wniosku habilitacyjnego dr Anety Ścieżyńskiej stanowi pięć prac opublikowanych w latach 2019–2023, wydzielonych z dorobku naukowego powstałego po uzyskaniu stopnia doktora, opatrzonych wspólnym tytułem „Zastosowanie komórek skóry jako modelu do badań molekularnego podłoża chorób siatkówki wywoływanych mutacjami genu ABCA4”:

1. **Ścieżyńska A**, Nogowska A, Sikorska M, Konys J, Karpińska A, Komorowski M, Ołdak M, Malejczyk J. Isolation and culture of human primary keratinocytes-a methods review. *Exp Dermatol.* 2019 Feb;28(2):107-112. IF: 3,368 MEiN: 100 pkt
2. **Ścieżyńska A**, Sobiepanek A, Kowalska PD, Soszyńska M, Łuszczynski K, Grzywa TM, Krześniak N, Góźdz A, Włodarski PK, Galus R, Kobiela T, Malejczyk J. A Novel and Effective Method for Human Primary Skin Melanocytes and Metastatic Melanoma Cell Isolation. *Cancers (Basel).* 2021 Dec 13;13(24):6244. IF: 6,575 MEiN: 140 pkt
3. **Ścieżyńska A**, Sobiepanek A, Soszyńska M, Łuszczynski K, Radziszewski M, Levkovich I, Krześniak N, Orzechowska B, Lutyńska A, Malejczyk J. Role of geneticin in isolation and culturing of skin melanocytes and melanoma cells. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej.* 2023;77(1): 72-81,IF: 0,3 MEiN: 40 pkt
4. **Ścieżyńska A**, Soszyńska M, Komorowski M, Podgórska A, Krześniak N, Nogowska A, Smolińska M, Szulborski K, Szaflik JP, Noszczyk B, Ołdak M, Malejczyk J. Molecular Analysis of the ABCA4 Gene Mutations in Patients with Stargardt Disease Using Human Hair Follicles. *Int J Mol Sci.* 2020 May 13;21(10):3430. IF: 5,924 MEiN: 140 pkt

5. **Ścieżyńska A**, Łuszczynski K, Radziszewski M, Komorowski M, Soszyńska M, Krześniak N, Shevchenko K, Lutyńska A, Malejczyk J. Role of the ABCA4 Gene Expression in the Clearance of Toxic Vitamin A Derivatives in Human Hair Follicle Stem Cells and Keratinocytes. *Int J Mol Sci.* 2023 May 5;24(9):8275. IF: 5,600 MEiN: 140 pkt

Osiągnięcie tworzą prace (jedna przeglądowa i cztery oryginalne) o łącznym IF 21,767. We wszystkich pracach Kandydatka jest pierwszym autorem, co świadczy o jej wiodącym udziale w ich powstaniu. Prace stanowią spójny tematycznie cykl badań dotyczący opracowania komórkowego modelu do analiz zmian komórkowych wynikających z mutacjami genu *ABCA4* (ang. ATP-binding cassette transporter). Retinopatia *ABCA4* to zróżnicowana fenotypowo choroba genetyczna. Zidentyfikowano ponad 1000 mutacji genu *ABCA4*. Leczenie sprowadza się do spowolnienia procesu degradacji siatkówki, ale w opinii Kandydatki, być może wyodrębnienie spośród chorych genetycznie określonych podgrup pacjentów pozwoliłoby na uzyskiwanie lepszych wyników leczenia.

Główne osiągnięcie Kandydatki to pięć prac, z których trzy stanowią prace metodyczne (w tym praca przeglądowa), a w dwóch podjęto próby oceny roli genu *ABCA4* w komórkach naskórka.

Praca pierwsza (*Exp Dermatol.* 2019) to przegląd dostępnego piśmiennictwa na temat metod izolacji i hodowli keratynocytów naskórka i wybór na tej podstawie metody do izolacji tych komórek w badaniach własnych.

Kolejne dwie prace (*Cancers (Basel).* 2021; *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2023) dotyczą już badań własnych Kandydatki nad opracowaniem nieenzymatycznej metody izolacji i hodowli kolejnych komórek skóry – melanocytów. Kandydatka hodowała, w określanych doświadczalnie warunkach, eksplanty skóry. Ta technika pozwala z dużą wydajnością pozyskać fibroblasty, zaś otrzymanie czystej hodowli melanocytów z naskórka wymagało dużego, koncepcyjnego podejścia do tego metodycznego problemu badawczego. Separacja keratynocytów od melanocytów z wykorzystaniem odmiennego czasu trypsynizacji to rzeczywiście innowacyjna technika. Otrzymane tą metodą melanocyty wykazują cechy fenotypowe charakterystyczne dla tych komórek m. in. produkują melanicę, wykazują obecność enzymu tyrozynazy i antygeny Melan-A. Ze względu na możliwość zanieczyszczenia hodowli fibroblastami opracowano schemat postępowania umożliwiający usunięcie tych komórek w początkowym etapie hodowli poprzez wzbogacenie pożywką w genetyczną, która hamuje namnażenie komórek szybciej się dzielących tj. fibroblastów. Melanocyty, pomimo obniżenia ich żywotności (85%), hodowano z genetyczną w stężeniu 0.05 mg/mL przez 24 godziny. Zastosowanie tego antybiotyku do ostatecznego protokołu hodowli melanocytów pozwala na utrzymanie czystości hodowli tych komórek np. pochodzących z unikatowego materiału klinicznego.

Prace 1,2,3 pozwoliły na opracowanie metod pozyskiwania i hodowli keratynocytów, fibroblastów i melanocytów z łatwo dostępnego materiału klinicznego tj. skóry

W czwartej publikacji (*Int J Mol Sci.* 2020) określono poziom ekspresji genu *ABCA4* na poziomie mRNA i białka w komórkach skóry (keratynocytach, melanocytach, fibroblastach) oraz mieszkach włosowych brwi pobranych od osób z grupy kontrolnej. Uzyskane wyniki wykazały znaczącą ekspresję tego genu w mieszkach włosowych brwi. W związku z tą obserwacją pozyskano do badań także mieszki włosowe z brwi od osób z retinopatią *ABCA4* (choroba Stargardt'a'; 3 osoby ze

zdiagnozowanymi mutacjami genu *ABCA4*). Wykazano, że warianty c.5312+1G>A oraz c.5312+2T>G prowadziły do utraty egzonu 37 transkryptu *ABCA4*, zaś u trzeciej osoby z wariantem c.5836-3C>A była insercja 30 nukleotydów do transkryptu *ABCA4* między egzonem 41 i 42. Te wyniki są zgodne z danymi z piśmiennictwa, ale uzyskano je zdecydowanie prostszą metodą. Zatem łatwy do pobrania materiał, mieszki włosowe z brwi, mogą służyć jako materiał do szczegółowych badań wariantów genetycznych tej grupy chorych. Analiza qRT-PCR ekspresji genu *ABCA4* w mieszkach włosowych pacjentów wykazała obniżoną ekspresję tego genu w porównaniu do osób z grupy kontrolnej.

W kolejnej pracy (Int J Mol Sci. 2023) przedmiotem badań funkcjonalnych genu *ABCA4* nie były jednak mieszki włosowe a izolowane keratynocyty i komórki linii komercyjnej HHF-SC (komórki macierzyste mieszka włosowego). Badania immunohistochemiczne skóry wykazały zawartość białka *ABCA4* w warstwie podstawnej naskórka, a lokalizacja komórkowa wskazywała, że białko to jest w różnych kompartmentach komórki m.in. w mitochondriach. Ze względu na fundamentalną rolę pochodnych witaminy D w biologii naskórka, w pracy tej badano także wpływ pochodnych witaminy D (at-RAL all-trans retinalu, kwasu retinowego) na izolowane keratynocyty grupy kontrolnej i komórki macierzyste mieszków włosowych linii HHF-S.C. Zaobserwowano, że dodanie do badanych komórek at-RAL działało cytotoksycznie przy jednoczesnym zwiększaniu zawartości mRNA *ABCA4*, w sposób zależny od dawki. Autorzy wykazali, że gen *ABCA4* może odgrywać rolę w procesie różnicowania keratynocytów a także wpływać na ich żywotność. Podsumowując, według Kandydatki opracowany model badawczy umożliwi prowadzenie badań nad biologicznymi efektami mutacji genu *ABCA4*.

Po analizie prac cyklu nasuwa się uwaga dotycząca tytułu cyklu. W tytule osiągnięcia użyto słowa „zastosowanie” modelu do badań mutacji genu *ABCA4* w retinopatii, ale nie ma jeszcze wyników takich obserwacji. Stworzony został model badawczy, który dopiero zostanie wykorzystany, bo przeprowadzono obserwacje na keratynocytach osób „zdrowych” i komórkach macierzystych mieszków włosowych linii HHF-SC. Zresztą sama Kandydatka w podsumowaniu osiągnięcia pisze, że „Otrzymane rezultaty stanowią wstęp do kolejnych badań, w których planowane jest porównanie fizjologii komórek skóry osób z grupy kontrolnej z materiałem pobranym od pacjentów z mutacjami genu *ABCA4*... ” Jednakże pomimo tej uwagi, uważam, że stworzony model daje nowe, unikatowe możliwości prowadzenia badań biologicznych/komórkowych na materiale pozyskanym od chorych z retinopatiami wywołanymi mutacjami genu *ABCA4*. Wskazanie na mieszki włosowe brwi jako źródło pozyskania materiału badawczego od chorych uważam za bardzo cenną obserwację. Model ma potencjał badawczy.

2.2. Pozostałe osiągnięcia naukowe

Pozostały dorobek po doktoracie, poza pracami wskazanymi jako zasadnicze osiągnięcie habilitacyjne, to prace poświęcone m. in. biologii komórek macierzystych, mechanizmom endometriozy. Wartość naukowych wskaźników tego dorobku wskazuje na znaczący rozwój Kandydatki w tym okresie.

W dorobku Kandydatki na szczególną uwagę zasługują prace związane z badaniami nad molekularnym podłożem endometriozy:

- **Ścieżyńska A**, Komorowski M, Soszyńska M, Malejczyk J. NK Cells as Potential Targets for Immunotherapy in Endometriosis. J Clin Med. 2019 Sep 14;8(9):1468;
- Milewski Ł, **Ścieżyńska A**, Ponińska J, Soszyńska M, Barcz E, Roszkowski PI, Kamiński P, Włodarski P, Płoski R, Malejczyk J. Endometriosis Is Associated with Functional Polymorphism in the Promoter of Heme Oxygenase 1 (HMOX1) Gene. Cells. 2021 Mar 21;10(3):695;
- Żeberkiewicz M, Hyc A, Iwan A, Zwierchowska A, **Ścieżyńska A**, Kalaszczyńska I, Barcz E, Malejczyk J. Expression of Fucosyltransferase 4 (FUT4) mRNA Is Increased in Endometrium from Women with Endometriosis. J Clin Med. 2022 Sep 23;11(19):560

Wynikiem tych badań było wykazanie, że u pacjentek z endometriozą występuje podwyższony poziom ekspresji genu FUT4 kodującego enzym fukozylotransferazę 4 uczestniczącą w biosyntezie glikanów. Odkrycie to stanowiło podstawę otrzymania patentu pt.: „Sposoby wykrywania endometriozy” (nr 240830) oraz przyczyniło się do opracowania i komercjalizacji testu diagnostycznego, umożliwiającego nieinwazyjną metodę endometriozy. Współudział Kandydatki w tym odkryciu jest ważnym osiągnięciem naukowym nie tylko w naukach podstawowych, ale ma także charakter aplikacyjny.

Podsumowując, oceniam osiągnięcia naukowe dr n. med. Anety Ścieżyńskiej jako istotne i wnoszące wkład w rozwój nauk medycznych. Habilitantka dysponuje wartościowym warszatem badawczym, jest zaangażowana w rozwój badań naukowych w dziedzinie badań podstawowych i patofizjologii. Rodzaj publikacji i umiejętność interpretacji danych świadczą o rozwoju naukowym. Dorobek naukowy Kandydatki został opublikowany głównie w piśmiennictwie międzynarodowym. Indeks-H 6, liczba publikacji naukowych wynosi ponad 20 (w tym większość po uzyskaniu stopnia doktora), a sumaryczny indeks oddziaływania IF wynosi 77,514, zaś punktacja MEiN 1650. Znaczenie prac potwierdza dobra liczba cytowań (prawie 160 wg Scopus). Na podkreślenie zasługuje także skuteczne pozyskiwanie funduszy na zaplanowane badania naukowe ze źródeł zewnętrznych (kierownik grantu w Preludium NCN) i wewnątrzuczelnianych, to ważna umiejętność lidera zespołu.

3. **Aktywność naukowa realizowana w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej .**

Kandydatka współpracuje z wieloma jednostkami naukowymi macierzystej uczelni, ale także i innymi krajowymi ośrodkami badawczymi, a w części z nich była zatrudniona w różnych okresach swojego rozwoju naukowego (Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Centrum Medycznego Kształcenia w Warszawie, Uniwersytet Jagielloński). Wymiernymi efektami tej działalności są wspólne publikacje, podjęte działania organizacyjne (założenie zwierzętarń w standardzie SPF), a także patent pozwalający na opracowanie testu diagnostycznego do wykrywania endometriozy. Te wymierne efekty dokumentują istotną aktywność naukową Kandydatki realizowaną w więcej niż jednej uczelni.

4. **Inne aktywności**

Kandydatka jako pracownik uniwersytetu prowadzi także zajęcia dydaktyczne oraz uczestniczy w ich organizacji w jednostce w której pracuje tj. Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii WUM. Na uwagę zasługuje spore zaangażowanie Kandydatki we współpracę ze studentami koła naukowego

przy Zakładzie Histologii, co oznacza, że potrafi zainteresować młodych ludzi nauką, a w obecnych warunkach nie jest to takie proste.

Kandydatka aktywnie prezentuje wyniki swoich badań na konferencjach naukowych a także angażuje się w organizację takich wydarzeń, recenzuje manuskrypty dla czasopism naukowych.

Wniosek

Bazując na dostarczonych dokumentach, w tym szczególnie na ocenie całego dorobku oceniam dr n. med. Anetę Ścieżyńską jako pracownika dojrzałego i zdolnego do samodzielnej pracy naukowej. Kandydatka przedstawiła wartościowe osiągnięcia badawcze, mogące być podstawą wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Kandydatka współpracuje z ośrodkami naukowymi dokumentując swoją aktywność w tym zakresie publikacjami, patentem, osiągnięciami organizacyjnymi. Biorąc to pod uwagę wyrażam pozytywną opinię o spełnianiu przez Kandydatkę wymogów o których mowa w art. 219, Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym z dnia 20 lipca 2018 r. (z późn. zm.) i tym samym wnoszę o nadanie dr n. med. Anecie Ścieżyńskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.

Gdańsk. 07.03.2024

Zakład Embriologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
prof. dr hab. Mirosława Cichorek

Mirowski
Kierownik