

INSTYTUT KARDIOLOGII
im. Prymasa Tysiąclecia
Stefana Kardynała Wyszyńskiego
Klinika Nadciśnienia Tętniczego
ul. Arcejska 42, 04-628 Warszawa
tel. (22) 34 34 339. fax (22) 34 34 517

Warszawa, 25. 02. 2013 r.

Rada Wydziału Lekarskiego

Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum

Uchwała wraz z uzasadnieniem Komisji Habilitacyjnej w sprawie nadania dr Beacie Kieć-Wilk stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, dyscyplinie medycyna

Opinie opracowano w oparciu o:

1. Trzy oceny osiągnięć naukowych dr Beaty Kieć –Wilk opracowane przez
 - prof. dr hab. Jana Tatonia
 - prof. dr hab. Mariusza Ratajczaka
 - prof. dr hab. Marka Sanaka
2. Autoreferat dr n. med. Beaty Kieć-Wilk
3. Protokół z głosowania Komisji Habilitacyjnej

Dr Beata Kieć–Wilk studia ukończyła w roku 2001, z wynikiem bardzo dobrym (druga lokata na roku) na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego. W grudniu 2005 roku rozpoczęła pracę w Katedrze Biochemii Klinicznej UJ CM, początkowo na etacie techniczno-naukowym, a po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych na etacie asystenta. W tym okresie pracowała w Pracowni Biologii Molekularnej i Genetyki, przekształconej w roku 2011 w Zakład Nutrigenomiki i Badań Genetycznych.

Dorobek naukowy dr Beaty Kieć Wilk stanowi 57 prac oryginalnych oraz 25 prac poglądowych, o łącznym **IF** wynoszącym **147,368** (1132,5 punktów KBN/MNiSW).

Jest autorem i współautorem 17 rozdziałów w podręcznikach dla lekarzy i studentów z dziedziny biochemii klinicznej i diagnostyki, nadciśnienia tętniczego, kardiologii oraz schorzeń metabolicznych.

Prace dotyczą nowego rozdziału wiedzy zwanej *nutrigenomiką*, która dzięki rozwojowi badań molekularnych o tzw. „dużej przepustowości”- doprowadziły do wykrycia nowych mechanizmów regulacji ekspresji genów – epigenetyki, tłumaczących oddziaływanie środowisko-gen i zjawisko „pamięci metabolicznej”. Warsztat badawczy przygotowała w oparciu o doświadczenie zdobyte na licznych stażach w Ośrodkach badawczych Anglii (Newcastle, Londyn, Cambridge), Niemiec (Regensburg), Holandii (Louven) i Irlandii(Dublin).

Wiele prac w swoim dorobku Habilitantka poświęciła założeniu, że angiogeneza towarzyszy nie tylko rozwojowi płodu, chorobie nowotworowej, ale i przebudowie narządów, w tym tkanki tłuszczowej, jak również towarzyszy różnego rodzaju procesom zapalnym łącznie z formowaniem blaszki miażdżycowej. Proces ten badano w modelach hodowli komórek ludzkich śródbłonna naczyń (HUVEC), komórkach progenitorowych krwi pępowinowej (EPC), jak i komórkach progenitorowych tkanki tłuszczowej (tzw. *stromal vascular fraction*). Podgrupę tych badań stanowią prace dotyczące wpływu wybranych składników diety - tzw. nutrientów (kwasów tłuszczowych, karotenoidów) na różne etapy angiogenezy. Badania te były prowadzone Katedrze Biochemii Klinicznej UJ CM w ramach koordynowanego projektu FW 5. UE pt.: „DLARFID” i kontynuowane w ramach projektu badawczego UE FW 6. „NUGO”. Wykazano w nich modulujący wpływ beta-karotenu na metabolizm i angiogenezę (działanie antyapoptotyczne, stymulacja chemotaksji i „tubulogenezy”- formowanie prymitywnych kapilar) przez beta-karoten, prekursor kwasu retinowego (vitA) niezbędnego dla aktywacji czynnika transkrypcyjnego RXR-partnera PPARs. Podczas badań dotyczących regulującego wpływu beta-karotenu oraz kwasów tłuszczowych (nutriety) na proces angiogenezy po raz pierwszy zwrócono oryginalnie uwagę na epigenetyczny mechanizm regulacji ekspresji genów przez nutrienty. Badania te rozpoczęły cykl publikacji w piśmiennictwie światowym, dowodzące wpływu kwasów tłuszczowych (nie tylko glukozy) na metylację DNA. W tym mechanizmie dochodziło do aktywacji genów związanych z możliwym ułatwianiem zagnieżdżania się komórek progenitorowych w procesie neowaskularyzacji, co było nowatorską obserwacją wykonaną na zdrowych komórkach ludzkich związanych z medycyną regeneracyjną; większość prac z zakresu epigenetyki dotyczyła komórek nowotworowych. Prace te są wstępem do prowadzonych badań

dotyczących obecnie dotychczasowych zdolności przystosowawczych naszego organizmu zmienność fenotypowa („*phenotype flexibility*”) - nowej dziedziny obserwacji uważanej ostatnio za wykładnik zdrowia organizmu. Publikacje z tej dziedziny stanowią podstawę rozprawy habilitacyjnej.

W wyniku uczestnictwa w projekcie UE „LIPGENE” powstało szereg (ponad 40) prac dotyczących wpływu mutacji genów odpowiedzialnych za podstawy molekularne zespołu metabolicznego, a indywidualna odpowiedź organizmu na typ diety. Nowatorską obserwacją było stwierdzenie; iż dieta wysokowęglowodanowa może bardziej niż wysokotłuszczowa być odpowiedzialna za parametry postprandialnego odczynu zapalnego. Zjawisku temu zapobiega obecność niewielkiej ilość kwasów ω -3. Nowy program F7 UE „BIOCLAIMS” w którym uczestniczy Habilitantka, poświęcony jest właśnie poszukiwaniom nowych, epigenetycznych (np. miRNA) i metabolomicznych (acylkarnityna) biomarkerów zespołu metabolicznego właśnie w okresie postprandialnym w celu wczesnej prewencji przekształcenia („prediabetes” stanu przedcukrzycowego) w cukrzycę typu 2.

Osiągnięciem naukowym dr n. med. Beaty Kieć-Wilk , które jest podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego jest cykl pięciu prac obejmujących zagadnienia wpływu oraz mechanizmów regulacyjnych wybranych nutrietów na poszczególne etapy procesu angiogenezy (różnicowanie, proliferacja czy chemotaksja) z udziałem zarówno komórek progenitorowych (EPC) jak i zróżnicowanych komórek śródbłónka (HUVEC).

Badania *in vitro* przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy habilitacyjnej pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Kwasy tłuszczowe (OA, PA, AA EPA) oraz BC w stężeniach fizjologicznych nie wpływają na różnicowanie, proliferację oraz tubulogenezę komórek progenitorowych (EPC) jak i zróżnicowanych komórkach śródbłónka (HUVEC). Badane nutrieny istotnie stymulowały chemotaksję komórek obydwu linii, co może sprzyjać angiogenezie *in vivo* (udowodniły to publikacje innych badaczy ogłoszone ostatnio).
2. W fizjologicznych stężeniach BC oraz AA regulują ekspresję genów kodujących białka kontrolujące główne etapy procesu angiogenezy – przede wszystkim migrację komórek i ich zasiedlanie (chemotaksja IL-8 czy KDR, homing CXCL12/SDF1, połączenie międzykomórkowe Cx43).

3. Istnieje podobieństwo epigenetycznej regulacji ekspresji genów nieodróżnicowanych komórek EPC i komórek nowotworowych. Zmiany ekspresji genów związanych z angiogenezą w komórkach śródbłonna mogą być zależne od mechanizmów epigenetycznych, w szczególności zmian metylacji promotorów odpowiednich genów.

4. W warunkach stresu metabolicznego indukowanego inkubacją z TNF α oraz z kwasami palmitynowym i olejowym w fizjologicznych, nietoksycznych stężeniach powoduje spadek wartości potencjału wewnętrznej błony mitochondriów ($\Delta\psi$) rzutujący na proces generacji ATP.
5. Zmiany stężenia białka Cx43 w komórkach HUVEC wydają się zależeć od rodzaju WKT. Inkubacja komórek śródbłonna z kwasami AA i EPA indukowała narastanie poziomu Cx43 równoległe ze znacznym wzrostem wartości potencjału ($\Delta\psi$) błony mitochondrialnej. Uzyskane wyniki sugerują, że wzrost wartości i zmiany poziomu Cx43 w HUVECs, po ich inkubacji z wybranymi wielonasyconymi WKT, promuje tzw. „hartowanie komórek”.

Pan Profesor Jan Tatoń, z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w swojej recenzji podkreśla, iż:

Cykl 5 prac badawczych przedstawionych, jako podstawa do nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego Beacie Kieć-Wilk, cykl badań i publikacji łączy wspólna hipoteza badawcza, wysoce rozwinięta metodyka obejmująca nowe biologiczne badania epigenetyczne tworzące nową medycynę regeneracyjną. Daje ona możliwość przeciwdziałania epidemiom chorób degeneracyjnych. W dużej mierze należą nowe działy badań angiogenezy, które mogą przynosić nowe kliniczne możliwości prewencji i leczenia. We wniosku swojej recenzji Profesor Jan Tatoń pisze iż „działalność naukową, dydaktyczną i ogólnie ujmując akademicką dr med. Beaty Kieć-Wilk należy ocenić bardzo pozytywnie. Odznacza się nowatorstwem naukowej tematyki, wysoko rozwiniętą techniką badawczą, istotnymi wynikami badań i wpływem na rozwój nowego tak potrzebnego kierunku jakim jest medycyna regeneracyjna”.

Wspomniany cykl prac tworzy wiedzę w zakresie epigenetycznej i nutrogenomicznej regulacji angiogenezy. Prace te w pełni i to w sposób wyróżniający się spełniają kryteria

Wartości naukowej i medycznej określone w odpowiednich ustawach jako wymóg nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego. Recenzent wnioskuje o przyznanie dr n. med. Beacie Kiec-Wilk stopnia doktora habilitowanego.

Pan Profesor Marek Sanak z Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum stwierdza iż:

Wybranych do dorobku habilitacyjnego cykl 6 publikacji, jest spójny zarówno pod względem tematyki, jak i metodyki badań. Widoczne jest - w ciągu 5 lat kiedy ukazały te publikacje - wprowadzanie coraz nowszych technik laboratoryjnych. Publikacje łączy się w cykl badań nad mechanizmami modyfikującymi biologię naczyń krwionośnych pod wpływem dietetycznej podaży lipidów, procesu o zasadniczym znaczeniu dla przewlekłych chorób cywilizacyjnych. Dominujący udział dr n. med. Beaty Kieć-Wilk w mówionych powyżej badaniach eksperymentalnych znajduje potwierdzenie w pisemnym oświadczeniu współautorów publikacji, którzy jednoznacznie zakreślili swoje kontrybucje jako pomoc techniczna w prowadzeniu linii komórkowych, wyników badania ekspresji metodą macierzy lub amplifikacji PCR albo redakcję manuskryptu. Profesor Sanak zgłasza jednak uwagę, iż w załączonych oświadczeniach nie zawarto jednak procentowego wkładu współautorów, tak jak to zostało określone w rozporządzeniu MNiSW poz.1165 Dz.U. nr 196/2,z dn 1.09.2011. Profesor Marek Sanak w podsumowaniu wysoko ocenia osiągnięcia naukowe dr Beaty Kieć – Wilk, jakim jest wyjaśnienie na podstawie spójnego cyklu opublikowanych badań eksperymentalnych wpływu karotenu i kwasu arachidonowego na potencjał angiogenezy komórek progenitorowych i śródbłotka naczyniowego, a także wyjaśnienie mechanizmu molekularnego tej regulacji, opartego na epigenetycy zmianach aktywności promotorów kluczowych genów. Zostało to uznane i zaakceptowane jako potencjalnie możliwe do modyfikacji przez interwencje terapeutyczna czynnik ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Również pozytywnie ocenia aktywności naukowe Habilitantki. Jednoznacznie stwierdza, iż po zapoznaniu się ze złożoną przez dr Kieć-Wilk dokumentacją w sprawie wszczęcia jej przewodu habilitacyjnego, a także na podstawie lektury opublikowanych przez dr Kieć-Wilk osiągnięć naukowych, że spełnia ona kryteria wymagane w ubieganiu się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

recenzji stwierdza iż:

Zainteresowania naukowe dr n. med. Beaty Kieć-Wilk są rozległe, a udział Habilitantki w tym cyklu pięciu prac zespołowych wynosi od 70 - 80%. Na uwagę zasługuje również fakt, że Habilitantka była wielokrotnie nagradzana za osiągnięcia na polu naukowym. W 2005 roku i 2011 roku została nagrodzona Nagrodą Zespołową Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (2005 r), a następnie nagrodzona Nagrodą Zespołową Ministra Zdrowia dla Nauczycieli Akademickich (2011 r).

Podsumowując, Pan Profesor Ratajczak uważa, że „najważniejszymi i oryginalnymi wnioskami z przeprowadzonych przez Habilitantkę badań jest obserwacja - iż kwasy tłuszczowe (OA, PA, AA EPA) oraz BC w stężeniach fizjologicznych nie wpływają na różnicowanie, proliferację oraz tubulogenezę EPC jak i zróżnicowanych HUVEC. Badane nutrieny istotnie stymulowały natomiast chemotaksję komórek obydwu linii, co może sprzyjać zjawisku angiogenezy *in vivo*. W fizjologicznych stężeniach BC oraz AA regulują ekspresję genów kodujących białka kontrolujące główne etapy procesu angiogenezy – przede wszystkim migrację komórek i ich zasiedlanie. Habilitanta postuluje również, że istnieje podobieństwo epigenetycznej regulacji ekspresji genów niezróżnicowanych komórek EPC i komórek nowotworowych. Na uwagę zasługuje obserwacja, że zmiany ekspresji genów związanych z angiogenezą w komórkach śródbłonna mogą być zależne od mechanizmów epigenetycznych, w szczególności zmian metylacji promotorów tych genów. Bardzo ciekawą obserwacją jest fakt, że w warunkach stresu metabolicznego indukowanego inkubacją z TNF-alpha oraz z kwasami palmitynowym i olejowym stosowanymi w fizjologicznych, nietoksycznych stężeniach obserwuje się spadek wartości potencjału wewnętrznej błony mitochondriów) rzutujący na proces generacji ATP. Zmiany stężenia białka Cx43 w komórkach HUVEC wydają się zależeć od rodzaju WKT. Inkubacja komórek śródbłonna z kwasami AA i EPA indukowała narastanie poziomu Cx43 równoległe ze znacznym wzrostem wartości błony mitochondrialnej. Uzyskane wyniki sugerują, że wzrost wartości i zmiany poziomu Cx43 w HUVECs, po ich inkubacji z wybranymi wielonasyconymi WKT, promuje tzw. „hartowanie komórek”. Badania te były przeprowadzone w oparciu o uznane metody i uzyskały już pozytywną ocenę ekspertów w trakcie ich publikowania w renomowanych czasopismach. Badania dr Kieć-Wilk dotyczą zagadnień klinicznych i diagnostycznych w kardiologii oraz nutrigenomice. Kandydatka posiada solidne przygotowanie kliniczne oraz

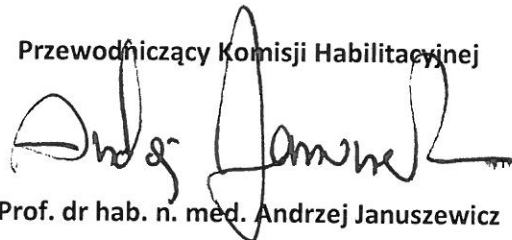
laboratoryjne jako lekarz potwierdzone licznymi specjalizacjami. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że Habilitantka należy w naszym kraju do pionierów nowoczesnej nutrigeomiki opartej na solidnym warsztacie molekularnym.

Profesor Ratajczak stwierdza iż , „dorobek naukowy dr Beaty Kieć-Wilk jest wystarczający do ubiegania się o uzyskanie tytułu naukowego doktora habilitowanego. Aktywność kliniczna oraz naukowo-dydaktyczna dr n. med. Beaty Kieć-Wilk dowodzi w pełni, że jest ona niezwykle zdolnym pracownikiem naukowym gotowym do podjęcia w pełni samodzielnej pracy naukowo-dydaktycznej. Wyrażam więc opinię, że dr Beata Kieć-Wilk spełnia w pełni wymagania stawiane samodzielnym pracownikom nauki .

Na podstawie analizy przesłanych mi dokumentów oraz analizy treści recenzji i jednomyślnie pozytywnego dla Habilitantki wyniku głosowania Członków Komisji Habilitacyjnej przeprowadzonego drogą elektroniczną, mogę stwierdzić, że osiągnięcia naukowe dr n. med. Beaty Kieć –Wilk spełniają kryteria wymagane dla przewodu habilitacyjnego.

Wobec powyższego zwracam się do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medium w Krakowie o nadanie dr n. med. Beacie Kieć-Wilk stopnia doktora habilitowanego.

Przewodniczący Komisji Habilitacyjnej



Prof. dr hab. n. med. Andrzej Januszewicz