



Gdański Uniwersytet Medyczny  
Wydział Lekarski  
Katedra Anatomii, Zakład Embriologii  
80-211 Gdańsk, ul Dębinki 1, tel/fax 058 349 14 95  
dr hab. Mirosława Cichorek

Gdańsk, 12. 06. 2016

## RECENZJA

osiągnięcia i całokształtu dorobku naukowego, organizacyjnego i dydaktycznego  
dr n. med. Patrycji Koszałki  
adiunkta w Zakładzie Biologii Komórki Katedry Biotechnologii Medycznej  
Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego  
Uniwersytetu Medycznego w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia  
naukowego doktora habilitowanego nauk biologicznych

### 1. Dane biograficzne

Dr nauk medycznych Patrycja Koszałka ukończyła biologię na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego w 1995r. Dalszy swój rozwój naukowy Kandydatka związała z Akademią Medyczną w Gdańsku, gdzie w roku 2000 uzyskała stopień doktora nauk medycznych na Wydziale Lekarskim AMG, na podstawie rozprawy pt. „Aktywność immunomodulacyjna i przeciwnowotworowa sklonowanego i oczyszczonego czynnika martwicy nowotworu (TNF) szczura” wykonanej pod kierunkiem prof. Jacka Bigdy. Doktor Koszałka do 2001 roku pracowała w Zakładzie Histologii, a potem w Zakładzie Biologii Komórki Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie od roku 2004 jest zatrudniona na stanowisku adiunkta.

### 2. Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego jednotematyczny zbiór publikacji zatytułowany: „Zastosowanie modelu myszy transgenicznej z knockoutem genu cd73 dla oceny roli białka CD73 w funkcjonowaniu i rozwoju układu krwionośnego ze szczególnym uwzględnieniem wpływu na formowanie łożyska naczyniowego czerniaka B16F10”.

Przedstawione do oceny „osiągnięcie naukowe” to zestaw 5. oryginalnych artykułów opublikowanych w latach 2004-16 o łącznym współczynniku oddziaływania IF 24,36 i punktacji MNiSW wynoszącej 139 punktów. W czterech pracach Habilitantka jest pierwszym autorem, w jednej czwartym współautorem, zatem Jej wiodący udział w powstaniu prac stanowiących osiągnięcie nie budzi wątpliwości.

1. Koszałka P., Özyüman B., Huo Y., Zernecke A., Flögel U., i wsp. (2004) Targeted disruption of cd73/ecto-5'-nucleotidase alters thromboregulation and augments vascular inflammatory response. *Circulation Research*, 95(8): 814-21. IF: 9,972; MNiSW: 24.

W tej publikacji Doktor Koszałka opisała swoją pracę, która doprowadziła do stworzenia modelu myszy z konstytutywnym nokautem genu dla ekto-5'-nukleotydyazy (CD73), enzymu zaangażowanego w produkcję adenozyiny w środowisku zewnętrznym komórki. Zewnątrzkomórkowa adenozyina jest aktywną biologicznie cząsteczką regulującą różnorodne procesy biologiczne m. in. odpowiedź immunologiczną, różnicowanie komórek. Pracując w grupie prof. Jürgena Schradera (Department of Cardiovascular Cardiology, Heinrich-Heine-University Düsseldorf University, Niemcy) Kandydatka skupiła się na ocenie biologicznych efektów wyłączenia genu cd73 w układzie naczyniowym. U zwierząt CD73-/- wykazano

zmiany niektórych parametrów hemodynamicznych przepływu krwi przez serce, zmiany funkcji płytek krwi i adhezji leukocytów do komórek śródbłonna w warunkach niedotlenienia.

2. Özyüyan B., Ding Z., Buchheiser A., Koszałka P., Braun N. I wsp. (2006) Adenosine produced via the CD73/ecto-5'-nucleotidase pathway has no impact on erythropoietin production but is associated with reduced kidney weight. *Pflugers Arch.*, 452: 324-31. IF: 4,807; MNiSW: 20.

Model myszy CD73<sup>-/-</sup> został wykorzystany również do badań nad wpływem ekto-5'-nukleotydyazy na produkcję erytropoetyny (EPO) przez nerki, narząd który charakteryzuje się szczególnie wysoką aktywnością CD73. Pomimo braku CD73 nie stwierdzono zmian w ekspresji EPO (mRNA, białko) zarówno w warunkach normoksji, jak i hipoksji. Natomiast zaobserwowano u zwierząt pozbawionych genu *cd73* znaczące (ok. 21%) obniżenie masy nerek, co okazało się trudne do jednoznacznego wyjaśnienia. Autorzy pracy wskazują na możliwe zaburzenia w rozwoju naczyń krwionośnych i udział CD73 w angiogenezie. Interesującą jest obserwacja o wysokiej aktywności CD73 w komórkach mezangium, które pochodzą z mezodermy grzebienia nerkotwórczego odgrywającego zasadniczą rolę w powstawaniu nefronów, zatem może nokaut spowodował obniżenie masy nerek jako wynik zaburzenia rozwoju nefronów np. zmniejszenie ich liczby?

3. Koszałka P., Pryszlak A., Gołuńska M., Kolasa J., Stasiłój G. i wsp. (2014) Inhibition of CD73 stimulates the migration and invasion of B16F10 melanoma cells in vitro, but results in impaired angiogenesis and reduced melanoma growth in vivo. *Oncol Rep.*, 31(2): 819-27. IF: 2,301; MNiSW: 20.
4. Koszałka P., Gołuńska M., Stanisławowski M., Urban A., Stasiłój G. i wsp. (2015) CD73 on B16F10 melanoma cells in CD73-deficient mice promotes tumor growth, angiogenesis, neovascularization, macrophage infiltration and metastasis. *Int J Biochem Cell Biol.*, 69: 1-10. IF: 4,046; MNiSW: 35.
5. Koszałka P., Gołuńska M., Urban A., Stasiłój G., Stanisławowski M. i wsp. (2016) Specific activation of A3, A2A and A1 adenosine receptors in CD73-knockout mice affects B16F10 melanoma growth, neovascularization, angiogenesis and macrophage infiltration. *PLoS One*, 11(3): e0151420. IF: 3,234; MNiSW: 40.

Kolejne trzy prace cyklu stanowiącego osiągnięcie habilitacyjne to już samodzielna praca koncepcyjna Habilitantki, która postanowiła określić rolę CD73 i receptorów adenozyiny w biologii czerniaka, ze szczególnym uwzględnieniem migracji komórek nowotworowych i rozwoju naczyń krwionośnych w obrębie guza.

Jako model badawczy Habilitantka wybrała czerniaka B16F10 myszy charakteryzującego się brakiem/obniżeniem zawartości melaniny w komórkach, niską aktywnością enzymatyczną CD73, a także szybkim wzrostem guza. Zanim przejdę do omówienia wyników tych prac pragnę podkreślić wkład pracy Habilitantki w stworzenie modelu do zaplanowanych badań, który wymagał odpowiedniej modyfikacji tła genetycznego u myszy CD73<sup>-/-</sup> umożliwiającej wzrost komórek B16F10 oraz opanowanie metody do analizy angiogenezy in vivo (Matrigel Plug Angiogenesis Assay).

Wyniki pracy opublikowane w *Oncology Reports* (publikacja 3) wykazały, że komórki B16F10 uważane za komórki CD73 negatywne, mają niską obecność CD73 w błonie komórkowej, ale we wnętrzu komórki zawartość tego enzymu jest bardzo wysoka. W obecności inhibitora CD73 obserwowano obniżenie zdolności adhezyjnych komórek B16F10 o prawie 50% czemu towarzyszyło zwiększenie zdolności migracyjnych tych komórek in vitro (wound healing test). Natomiast obserwacje wzrostu czerniaka B16F10 u zwierząt CD73<sup>-/-</sup> wykazały znaczące obniżenie wielkości guza oraz zmiany w jego unaczynieniu.

W kolejnej pracy (publikacja 4) stwierdzono, że u myszy CD73<sup>-/-</sup> wielkość guza B16F10, w którym komórki czerniaka pozbawiono CD73 (interferencji RNA), była ponad dwukrotnie mniejsza niż komórek B16F10 z CD73. Autorzy pracy wykazali, że obniżeniu wielkości guza w tym układzie towarzyszy obniżenie ekspresji pERK1/2 (aktywnej ufosforylowanej formy kinazy szlaku MAPK) i białka proapoptycznego Bad w komórkach

tego czerniaka. Dodatkowo ocena immunohistochemiczna guza wskazała na obniżenie ekspresji CD105 (marker proliferacji komórek śródbłonna) i VEGFR (receptor dla czynnika angiogenego VEGF) na komórkach śródbłonna naczyń guza oraz obniżenie zawartości makrofagów. Po dożylnym podaniu komórek B16F10 z zahamowaną ekspresją CD73 zwierzętom CD73<sup>-/-</sup>, zaobserwowano znaczny spadek liczby przerzutów do płuc.

W pracy kończącej cykl (publikacja 5) wykazano, że w hamowaniu wzrostu guza B16F10 uczestniczą receptory adenozyliny A1, A2A, A3 poprzez wpływ na angiogenezę w obrębie guza. Ekspresja tych receptorów reguluje także naciekanie guza przez makrofagi.

Opisane powyżej prace stanowią monotematyczny zestaw i tworzą koncepcyjną całość, która doprowadziła do uzyskania nowych i ważnych elementów istotnych dla zrozumienia biologii nowotworu, w szczególności czerniaka.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe, jako podstawa postępowania o nadanie dr Patrycji Koszałce stopnia dr habilitowanego spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego zgodnie z art.16. Ustawy o stopniach i tytule naukowym z 2003 roku z późniejszymi zmianami.

### **3. Ocena osiągnięć naukowo-badawczych z wyłączeniem prac stanowiących osiągnięcie naukowe.**

#### *3.1. Autorstwo lub współautorstwo prac oryginalnych, monografii, publikacji naukowych w czasopiśmie międzynarodowych lub krajowych*

Dorobek naukowy Habilitantki, z wyłączeniem prac stanowiących osiągnięcie naukowe, to 14 prac oryginalnych (11 po doktoracie; Habilitantka jest pierwszym autorem w 3.), 1. praca pogładowa (po doktoracie), 2. prace popularno-naukowe (po doktoracie) i 12 streszczeń zjazdowych według analizy bibliometrycznej. Zgodnie z zawartą informacją w autoreferacie Habilitantka uczestniczyła w 32. zjazdach [19. krajowych; 12. o zasięgu międzynarodowym]. Na moje telefoniczne zapytanie o tę znaczącą rozbieżność w liczbie streszczeń Habilitantka udzieliła wyjaśnienia, że nie zadbała w odpowiednim czasie o dokumentację bibliograficzną streszczeń (brak materiałów zjazdowych ze streszczeniami z wczesnego okresu Jej pracy naukowej).

Na podkreślenie zasługuje znaczący wzrost dorobku naukowego Habilitantki po doktoracie; indeks IF wzrósł z 0,657 do 19,642. Liczba cytowań wg. bazy Web of Science z dnia 15.03.201 wynosi 300; index h: 6.

Na początku swojej działalności badawczej Habilitantka zajmowała się antynowotworowym działaniem czynnika martwicy nowotworu oraz możliwością zahamowania angiogenezy w rozwijającym się czerniaku Bomirskiego chomika (5 prac).

Pobyt na stypendium po doktoracie skierował zainteresowania Habilitantki na proces angiogenezę i rolę ekto-5'-nukleotyduzy w tym procesie, co pozwoliło na opublikowanie kolejnych prac, również tych, które zainspirowały tematykę późniejszego cyklu stanowiącego osiągnięcie habilitacyjne. Należy podkreślić, że nabyte w tym okresie umiejętności stworzenia modelu myszy transgenicznej ze znokautowanym genem, niewątpliwie dały Habilitantce wartościowe narzędzie do badania roli ekto-5'-nukleotyduzy.

Wynikiem współpracy z innymi zespołami są również prace nad potencjalnymi biomarkerami guzów neuroendokrynnych czy przeciwnowotworowym działaniem peptydów przeciwbakteryjnych. Zatem tematyka zainteresowań Habilitantki mieści się w zakresie szeroko pojętej biochemii, a wykorzystywane narzędzia badawcze są bardzo różnorodne, co niewątpliwie daje Jej duże możliwości dalszego rozwoju naukowego.

#### *3.2. Kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach*

Habilitantka była kierownikiem projektu badawczego finansowanego przez MNSiW [MNSiW: N N401 006938 (2010-2014); „Wpływ metabolizmu adenozyliny na wzrost i rozwój

czerniaka na modelu myszy z knock-outem ekto-5'-nukleotyduzy (CD73)”. , a także uczestniczyła jako wykonawca w 9. projektach badawczych, z których 2. były wykonane w ramach współpracy z partnerem zagranicznym (Deutsche Forschungsgemeinschaft; Niemcy; 2002-04; 2009-12).

### *3.3. Międzynarodowe lub krajowe nagrody za działalność naukową*

Już podczas studiów na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego Habilitantka otrzymała nagrodę Rektora tej uczelni za wysokie wyniki w nauce i szczególne osiągnięcia w pracy naukowej oraz Stypendium Miasta Gdańska przyznawane wyróżniającym się studentom uczelni gdańskich. Potem dwukrotnie (1999, 2003) była nagradzana Nagrodą Rektora AMG oraz w 2004 firma 3M Medica GmbH nagrodziła Jej abstrakt dotyczący modelu myszy ze znokautowanym genem *cd73* (70. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herzund Kreislaufforschung, CCM Rosengarten, Monachium).

*3.4. Wygłoszenie referatów na międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych*  
Habilitantka wygłosiła do tej pory 3 referaty na krajowych konferencjach naukowych (1996, 1998, 2011).

Podsumowując, stwierdzam, że osiągnięcia naukowe dr P. Koszałki w zakresie nie wchodzącym w skład Jej pracy habilitacyjnej wskazują jednoznacznie, że jest ona zaangażowanym naukowcem, publikującym wartościowe prace badawcze, a Jej rozwój naukowy po doktoracie jest oczywisty. Uznaję, więc dorobek za spełniający wymogi stawiane kandydatom do awansu naukowego na stopień doktora habilitowanego zgodnie z art.16. Ustawy o stopniach i tytule naukowym z 2003 roku z późniejszymi zmianami.

## **4. Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej.**

### *4.1. Uczestnictwo w programach europejskich i innych programach międzynarodowych lub krajowych*

Habilitantka uczestniczyła aktywnie w organizacji nowoczesnej zwierzętarni w ramach projektu pt. „Wyposażenie nowoczesnego, naukowo-dydaktycznego ośrodka badań biomedycznych na zwierzętach w Gdańsku”; ZPORR Z/2.22/I/1.5/019/04 (2004-2008) finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego (m.in. organizacja pracowni biologii molekularnej, pracowni transgenezy zwierząt, zwierzętarni, specyfikacja aparatury do przetargów, udział w komisji przetargowej, nadzór nad montażem i uruchomieniem aparatury).

### *4.2. Udział w komitetach organizacyjnych konferencji*

- członek komitetu organizacyjnego; XIII International Congress of Histochemistry and Cytochemistry ICHC2008 „Imaging of Cell Dynamics”, 2008, Gdańsk, Polska,.
- skarbnik i członek komitetu organizacyjnego IV Konferencji Polskiego Towarzystwa Cytometrii „Zastosowanie cytometrii przepływowej w badaniach naukowych i diagnostyce”, 18-21.10.1998, Gdańsk, Polska (Katedra Histologii i Immunologii AMG)

### *4.3. Udział w konsorcjach i sieciach badawczych*

Habilitantka jest wykonawcą w grantcie o akronimie METENDOPHA [NCBiR nr 256 09-0835/18; Farmakoterapia śródbłonka naczyniowego i aktywacji płytek krwi zależna od prostacykliny, tlenku azotu i tlenku węgla – nowa strategia w zapobieganiu przerzutowości nowotworowej, w ramach programu STRATEGMED: STRATEGMED1/233226/11/NCBR/2015, Profilaktyka i leczenie chorób cywilizacyjnych (2015-2018)], firmowanym przez konsorcjum złożone z 5 ośrodków badawczych w Polsce: Uniwersytetu Jagiellońskiego

(JCET) (lider konsorcjum), Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz z Łotewskiego Instytutu Syntezy Organicznej w Rydze, Łotwa.

4.4. *Kierowanie projektami realizowanymi we współpracy z naukowcami z innych ośrodków polskich i zagranicznych, a w przypadku badań stosowanych we współpracy z przedsiębiorcami;*

BRAK

4.5. *Udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism*

BRAK

4.6. *Członkostwo w towarzystwach naukowych*

BRAK

4.7. *Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki*

Habilitantka prowadzi zajęcia dla kierunku lekarskiego Wydziału Lekarskiego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz biotechnologii Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, a także dla studentów Wyższej Szkoły Zarządzania w Gdańsku (WSZ) oraz na studiach podyplomowych „Farmacja Przemysłowa” GUMed. Nauczane przedmioty to histologia, biologia komórki, biotechnologia, biologia molekularna.

Dr Koszałka prowadzi wg. autorskiego programu cykl wykładów fakultatywnych pt. „Podstawy Transgenezy Zwierząt”.

Habilitantka opracowała skrypt w języku angielskim „Basics of Animal Transgenesis” (2014) w ramach projektu „PWP: Uniwersytet Jutra: Umiejdzynarodowienie kształcenia w Uniwersytecie Gdańskim poprzez współpracę z Uniwersytetem Houston-Downtown” (nr umowy UDA- POKL.04.01.01-00-025/13-00).

Doktor Koszałka bardzo aktywnie uczestniczy w popularyzacji wiedzy dotyczącej zastosowania komórek macierzystych oraz uzyskiwania i zastosowania zwierząt genetycznie modyfikowanych (wykłady, artykuły popularnonaukowe, audycje radiowe).

Jej działalność dydaktyczna została doceniona przez przyznanie w roku 2015 nagrody “Nauczyciel Roku” imienia Krzysztofa Celestyna Mrongowiusza.

Za opracowanie programów i wdrożenia nauczania z obszaru biotechnologii medycznej dr Koszałka otrzymała Nagrodę Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za osiągnięcia organizacyjne (2013).

4.8. *Opieka naukowa nad studentami i doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego.*

Dr Koszałka była promotorem 7. i opiekunem 2. prac magisterskich, promotorem 10. prac dyplomowych biotechnologów, a także opiekunem naukowym 2. doktoratów (1. zakończony)

4.9. *Staże w zagranicznych lub krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich*

- Zagraniczny staż naukowy; 23.08.2000 - 14.02.2003 oraz 15.05.2003 - 14.11.2003, Institut für Herzund Kreislaufphysiologie, Uniwersytet Heinricha-Heinego w Düsseldorfie, Niemcy
- Kurs Pracy ze Zwierzętami Doświadczalnymi; 12.02-14.03.2001, Tierversuchanlage, Universitätsklinikum Düsseldorf, Niemcy.
- Szkolenie w zakresie biotechnologii; 27.05- 03.06.1996, kurs organizowanym przez TEMPUS, Policlinico Monteluca, Perugia, Włochy. Międzynarodowy kurs szkoleniowy pokazujący specyfikę

4.10. *Wykonane ekspertyzy lub inne opracowania na zamówienie*

BRAK

4.11. *Udział w zespołach eksperckich i konkursowych*

Habilitantka w autoreferacie podaje w tej działalności swój udział w Komisji egzaminacyjnej egzaminu dyplomowego licencjata MWB UG-GUMed oraz pełnienie funkcji osoby nadzorującej doświadczenia na zwierzętach w Trójmiejskiej Akademickiej Zwierzętarni Doświadczalnej - Centrum Badawczo-Usługowym Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Jednak obie te formy pracy dotyczą wewnątrzuczelnianej aktywności. Natomiast nie ma działalności Habilitantki w pozauczelnianych zespołach eksperckich i konkursowych.

4.12. *Recenzowanie projektów międzynarodowych lub krajowych*

BRAK

4.13. *Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych*

Habilitantka do tej pory wykonała 2. recenzje w czasopismach z IF (Acta Oncologica, Folia Histochemica et Cytobiologica).

4.14. *Inne osiągnięcia, podane przez Habilitantkę*

- Opracowanie procedur bezpieczeństwa biologicznego związanego z pracą z wektorem lentiwirusowym wraz z oceną ryzyka przekazana do Departamentu Ochrony Przyrody Ministerstwa Środowiska
- Organizacja pracowni biologii molekularnej oraz pracowni transgenezy zwierząt w budynku Trójmiejskiej Akademickiej Zwierzętarni Doświadczalnej.

W ocenie całokształtu dorobku naukowego, organizacyjnego i dydaktycznego, należy zwrócić uwagę na następujące elementy, wskazujące na to, że dr Patrycja Koszałka posiada kwalifikacje samodzielnego pracownika naukowego:

- dorobek publikacyjny, dotyczący aktualnych tematów badawczych z zakresu biologii medycznej, ze szczególnym uwzględnieniem analizy roli enzymu ekto-5'-nukleotydyazy w funkcjonowaniu organizmu. W mojej ocenie dorobek ten mieści się w szeroko pojętym zakresie tematyki biochemii.
- współpraca z ośrodkami krajowymi i zagranicznymi, w których Habilitantka pełni ważne zadania związane z wykorzystaniem zwierząt transgenicznych
- znajomość nowoczesnego warsztatu badawczego z zakresu biochemii i biotechnologii, w tym umiejętność tworzenia modeli myszy transgenicznych
- wielokierunkowość pracy dydaktycznej z autorskim przedmiotem, autorstwem skryptu oraz dotychczasowa opieka naukowa nad ponad 20. studentami

Podsumowując stwierdzam, że przedstawione mi do oceny osiągnięcia naukowe oraz inne dokonania, uzyskane po otrzymaniu stopnia doktora nauk medycznych przez dr n. med. Patrycję Koszałkę wykazują znaczny wkład Habilitantki w rozwój nauk biologicznych, a Jej aktywność naukowa jest istotna, dlatego popieram wniosek o nadanie dr. Patrycji Koszałce stopnia doktora habilitowanego.

K I E R O W N I K

Zakładu Embriologii  
w Katedrze Anatomii



dr hab. n. med. Mirostawa Cichorek