



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Katedra Biochemii i Chemii Medycznej
ul. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin,
tel. +48 91 466 1515, fax +48 91 466 1516,
e-mail: irena.baranowska.bosiacka@pum.edu.pl

Szczecin 2023-08-15

**Recenzja osiągnięcia naukowego, dorobku naukowego,
organizacyjnego i dydaktycznego dr n.med. Tomasza Misztala
w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.**

**Sylwetka Kandydata do stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych
i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.**

Dr n. med. Tomasz Misztal w roku 2009 uzyskał dyplom magistra biologii ze specjalizacją biochemia na Uniwersytecie im. Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Dyplom doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna uzyskał w 2014 r. decyzją Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku na podstawie przedłożonej rozprawy doktorskiej pt.: „Wpływ reaktywnych form azotu na proces retrakcji skrzepu i fibrynolizę”. Promotorem rozprawy doktorskiej był Pan Prof. dr hab. Marian Tomasiak.

Kandydat podnosił swoje kwalifikacje poprzez pracę na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego (od 2009 r.), a następnie od 2016 r. – do obecnie pracując jako adiunkt badawczo-dydaktyczny. W okresie od września do października 2015 r. odbył wizytę stażową na Uniwersytecie w Maastricht.

Informacje o osiągnięciu naukowym Kandydata

Osiągnięcie naukowe zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt. 2i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z póź. zm.) to cykl powiązanych tematycznie czterech publikacji pt.: „**Reaktywne produkty stanu zapalnego –**

kwask chlorowy (I) i nadtlenuozotyn – jako modulatory hemostazy. Badania nad mechanizmem oddziaływania i kontrolą efektu" opublikowany w latach 2014-2022, o sumarycznym współczynniku oddziaływania **Impact Factor (IF)** wynoszącym **22,605** i łącznej wartości punktacji MEiN/MNiSW wynoszącej **305 (450*)**. *punktacja MEiN zgodna z listą z 2021 r.

Warto podkreślić, że Kandydat we wszystkich pracach jest pierwszym autorem:

(1) **Misztal Tomasz**, Rusak Tomasz, Tomasiak Marian. Clinically relevant HOCl concentrations reduce clot retraction rate via the inhibition of energy production in platelet mitochondria. *Free Radical Research*. 2014; 48(12): 1443-1453. **IF: 2,976; MEiN: 25 (70*)**, **cytowania wg Web of Science: 8**

(2) **Misztal Tomasz**, Rusak Tomasz, Brańska-Januszewska Justyna, Ostrowska Halina, Tomasiak Marian. Peroxynitrite may affect fibrinolysis via the reduction of platelet-related fibrinolysis resistance and alteration of clot structure. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015; 89; 533-547. **IF: 5,784; MEiN: 40 (140*)**, **cytowania wg Web of Science: 13**

(3) **Misztal Tomasz**, Gołaszewska Agata, Tomasiak-Łozowska Maria Magdalena, Iwanicka Marta, Marcińczyk Natalia, Leszczyńska Agnieszka, Chabielska Ewa, Rusak Tomasz. The myeloperoxidase product, hypochlorous acid, reduces thrombus formation under flow and attenuates clot retraction and fibrinolysis in human blood. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019; 141; 426-437. **IF: 6,170; MEiN: 140**, **cytowania wg Web of Science: 13**

(4) **Misztal Tomasz**, Gołaszewska Agata, Marcińczyk Natalia, Tomasiak-Łozowska Maria, Szymanowska Małgorzata, Chabielska Ewa, Rusak Tomasz. Natural polyphenols may normalize hypochlorous acid-evoked hemostatic abnormalities in human blood. *Antioxidants*. 2022; 11(4) 13 pp; Article ID 779. **IF: 7,675; MEiN: 100**, **cytowania wg Web of Science: 0**

Współczynnik wpływu IF poszczególnych prac wynosił od 2,976 do 7,675. We wszystkich pracach dr n.med. Tomasz Misztal odgrywał wiodącą rolę, co zostało potwierdzone w szczegółowej analizie wkładu własnego Kandydata do publikacji znajdującej się w dokumentacji wniosku potwierdzającej Jego rolę w powyższych pracach.

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl prac, które mogą być traktowane jako bardzo istotne doniesienia poruszające zagadnienia dotyczące mechanizmów działania wysoce reaktywnych produktów stanu zapalnego na hemostazę. Temat podjętych badań jest bardzo aktualny i niezmiernie istotny głównie z powodu zagrożenia zdrowia publicznego wynikającego z narastającej lawinowo liczby chorych z zaburzeniami hemostazy. Stąd wybór tematyki ma

bardzo duże znaczenie w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne, ponieważ dotyka istotnych elementów zdrowia publicznego.

Kandydat ustalił cele naukowe w powyższych dziedzinach i na podstawie analizy wyników badań i ich interpretacji sformułował wnioski:

1) Nadtlenoazotyn (ONOO^-) *per se* hamuje w sposób zależny od stężenia szybkość retrakcji skrzepu we krwi ludzkiej oraz wykazuje działanie synergistyczne z innym reaktywnym produktem stanu zapalnego – HOCl , co manifestuje się jako nasilone hamowanie retrakcji. Zatem, w przebiegu chorób związanych z przewlekłym lub ostrym stanem zapalnym, gdzie aktywowane komórki stanu zapalnego produkują znaczne ilości reaktywnych form tlenu, chloru i azotu, należy oczekiwać zaburzeń retrakcji.

2) ONOO^- promuje fibrylizę we krwi ludzkiej poprzez zahamowanie „oporności na fibrylizę zależnej od płytek krwi”. Może to stwarzać ryzyko przedwczesnego rozpuszczenia skrzepu i krwawienia przy jednoczesnym odsłonięciu wciąż trombogenicnej powierzchni uszkodzonego naczynia.

3) Siła hamowania przez ONOO^- poszczególnych odpowiedzi płytek krwi zależy od stężenia stresora. Podatność poszczególnych odpowiedzi na działanie ONOO^- układała się następująco: retrakcja skrzepu (najbardziej wrażliwa, $\text{IC}_{50} = 75 \mu\text{M}$) > sekrecja ($\text{IC}_{50} = 100 \mu\text{M}$) > odpowiedź prokoagulacyjna ($\text{IC}_{50} = 150 \mu\text{M}$). Retrakcja skrzepu jest zatem najczulszym na działanie ONOO^- elementem „oporności na fibrylizę zależnej od płytek krwi” i w warunkach stanu zapalnego jej zahamowanie będzie realizowało się już przy relatywnie niskich stężeniach stresora.

4) Należy spodziewać się, że nasiloną produkcją ONOO^- w ostrych/przewlekłych stanach zapalnych może stwarzać ryzyko zakrzepowo-zatorowe (zahamowana retrakcja zwiększa ryzyko tromboembolizmu), ale także ryzyko przedwczesnej lizy zakrzepu. Mogłoby to dodatkowo osłabić jego właściwości mechaniczne i przyczynić się do zwiększonego ryzyka zarówno oderwania zakrzepu i embolizacji naczynia jak i krwawienia z niezreperowanego, a przedwcześnie odsłoniętego miejsca uszkodzenia naczynia.

5) Klinicznie istotne (mikromolowe) stężenia HOCl , mogą w sposób istotny hamować retrakcję skrzepu, co sugeruje rolę HOCl w patogenezie epizodów zakrzepowych obserwowanych w przebiegu niektórych chorób o podłożu zapalnym. Istotnie statystycznie hamowanie retrakcji we krwi ludzkiej obserwowano już przy stężeniu HOCl wynoszącym $50 \mu\text{M}$. Ustalonym mechanizmem wpływu HOCl na retrakcję skrzepu jest hamowanie produkcji energii w mitochondriach płytek krwi.

6) HOCl hamował, w sposób statystycznie istotny, fibrylizę we krwi ludzkiej począwszy od stężenia 125 μM . Obserwowana silna redukcja szybkości fibrylizy w obecności HOCl wynika z wpływu tej reaktywnej formy chloru na fibrynogen, co przekłada się na zmienioną architekturę fibryny, w kierunku gęściejszej struktury bardziej odpornej na lizę. Efekt HOCl na fibrylizę nie wynika z wpływu na płytki krwi ani na osoczowe czynniki fibrynolityczne.

7) Wpływ ONOO⁻ i HOCl na fibrylizę jest przeciwstawny, zatem spodziewane jest wzajemne maskowanie tego efektu w warunkach jednoczesnej produkcji obu stresorów.

8) Naturalne polifenole pochodzenia roślinnego, takie jak: kwercetyna, gallusan epigallokatechiny i resweratrol – w stężeniach co najmniej dwukrotnie niższych niż te, które mogą *per se* hamować agregację płytek krwi – skutecznie chronią przed szkodliwymi efektami HOCl na hemostazę osoczną – szczególnie na strukturę skrzepu i szybkość fibrylizy. Co istotne, kwercetyna (10-50 μM) i gallusan epigallokatechiny (25-100 μM) chronią przed efektem HOCl zarówno w obecności płytek jak i przy ich absencji (normalizując powstawanie agregatów płytkowych w warunkach przepływu we krwi pełnej oraz strukturę skrzepu i fibrylizę w osoczu), zaś resweratrol (≥ 10 μM) wykazuje efektywne działanie „anty-HOCl” w osoczu ubogopłytkowym, zaś w obecności płytek krwi (krew pełna lub osocze bogatopłytkowe) nasila on hamujący wpływ HOCl wobec płytek.

Cykl prac przedstawiony przez Kandydata przedstawiający zróżnicowany wpływ badanych reaktywnych związków na hemostazę poszerza wiedzę o zależności między stanem zapalnym, a hemostazą o nowe, istotne aspekty oraz wskazuje na możliwość wystąpienia w stanach zapalnych zagrożeń związanych z nieefektywną retrakcją i osłabioną fibrylizą, takich jak zwiększone ryzyko zakrzepowo-zatorowe.

Wartość poznawcza uzyskanych przez Kandydata wyników obejmuje:

- 1) Odkrycie komórkowego mechanizmu hamowania retrakcji skrzepu przez HOCl, opierającego się na hamowaniu metabolizmu energetycznego płytek krwi [praca 1]
- 2) Ustalenie, że za zmienioną architekturę skrzepu i spowolnioną fibrylizę w obecności HOCl odpowiada jego działanie na fibrynogen [praca 3]
- 3) Wykazanie zróżnicowanej wrażliwości poszczególnych odpowiedzi płytek i aspektów hemostazy na działanie klinicznie istotnych stężeń HOCl i ONOO⁻ [prace 1-3]
- 4) Wykazanie, że ONOO⁻ hamuje „zależną od płytek krwi oporność na fibrylizę” – promując tym samym fibrylizę – wraz ze wskazaniem komórkowego mechanizmu tego oddziaływania (obejmującego wpływ ONOO⁻ na retrakcję skrzepu, sekrecję płytkową i odpowiedź prokoagulacyjną płytek krwi) [praca 2]

5) Ustalenie, że ONOO⁻ i HOCl mogą wykazywać działanie synergistyczne względem jednych aspektów hemostazy (wspólne hamowanie retrakcji skrzepu) podczas gdy inne, (tj. architektura skrzepu i fibrynoliza) mogą być modulowane przez omawiane reaktywne związki w sposób przeciwny [prace 1-3]

6. Wykazanie, że polifenole roślinne, ale nie wszystkie, mogą chronić przed szkodliwym wpływem HOCl na hemostazę, co wskazuje na ważkość odpowiednio zaprojektowanych badań podstawowych i przesiewowych podczas poszukiwania związków o aktywności „anty-HOCl” [praca 4].

Implikacje praktyczne i perspektywy:

1) Zidentyfikowanie (części) komórkowych i molekularnych podstaw oddziaływania HOCl i ONOO⁻ na hemostazę co przybliży perspektywę opracowania skutecznych strategii farmakologicznych redukujących niekorzystny efekt podwyższonych (toksycznych) stężeń tych produktów stanu zapalnego.

2) Podkreślenie roli zahamowanej retrakcji skrzepu oraz zmienionej struktury skrzepu i fibrynolizy jako czynników ryzyka zakrzepowo-zatorowego mogących nasilać się w stanach zapalnych.

3) Wskazanie potencjalnie diagnostycznej wartości pomiaru kinetyki retrakcji skrzepu, jako prostej, czulej i taniej metody, pozwalającej na ocenę zmienionej reaktywności płytek krwi w stanie zapalnym, których celem jest ocena ryzyka wystąpienia tromboembolizmu.

4) Wyniki zawarte w cyklu prac przedstawionych do oceny, stanowią podstawę do podjęcia badań nad normalizacją zaburzeń hemostazy przez wybrane polifenole z udziałem pacjentów z astmą i innymi chorobami o podłożu zapalnym, a związanymi ze zwiększonym ryzykiem występowania epizodów zakrzepowo-zatorowych.

Uzyskane wyniki badań przedstawione w cyklu „Reaktywne produkty stanu zapalnego – kwas chlorowy (I) i nadtlenoazotyn – jako modulatory hemostazy. Badania nad mechanizmem oddziaływania i kontrolą efektu” stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki farmaceutycznej. Są wartościowe, a uzyskane wnioski i zaproponowane postulaty mogą być podstawą do wprowadzenia postępowania profilaktycznego z zakresu wczesnego wykrywania chorób zakrzepowo-zatorowych i prowadzenia skutecznej terapii. Uważam, że badania te są wartościowe i oceniam pracę dr n. med. Tomasza Misztala pozytywnie.

Informacje o dorobku naukowo-badawczym

Zgodnie z przedstawioną w dokumentacji „Analizą bibliometryczną publikacji” z dnia 2 listopada 2022 r. podpisaną przez p.o. Dyrektora Biblioteki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora, dorobek naukowy dr n. med. Tomasza Misztala obejmuje 6 prac (w tym 2 poglądowe), wszystkie opublikowane w czasopiśmie z współczynnikiem IF łącznie 11,024; MEiN 135 pkt.

Natomiast po uzyskaniu stopnia doktora ten dorobek stanowi dziewiętnaście prac oryginalnych o łącznym współczynniku IF: 77,377; MEiN 1380 pkt oraz dwie prace oryginalne bez IF (MEiN 5 pkt). **Łączna punktacja całości dorobku (z osiągnięciem naukowym) wynosi 88,401 IF (MEiN 1520 pkt. zgodnie z rokiem opublikowania). Liczba cytowań wg Web of Science wynosi 257 (bez autocytowań 197). Indeks Hirscha wg Web of Science Core Collection oraz wg Scopus wynosi 11 (bez autocytowań), na dzień 02.11.2022.** W dotychczasowej działalności naukowej Kandydat wziął czynny udział w ponad 30 konferencjach naukowych o zasięgu międzynarodowym i krajowym (w 29 konferencjach po uzyskaniu stopnia doktora i 4 przed uzyskaniem stopnia doktora). Był pierwszym autorem lub współautorem doniesień konferencyjnych krajowych i zagranicznych, których streszczenia ukazały się drukiem w czasopiśmie naukowych oraz w książkach zjazdowych. Wygłaszał prezentacje ustne na konferencjach.

Kandydat wykazał się współpracą międzyuczelnianą (w kraju i z ośrodkami międzynarodowymi), co znalazło potwierdzenie we wspólnych publikacjach.

Kandydat dotychczas wielokrotnie pełnił funkcję wykonawcy oraz kierował pracami zespołów badawczych **realizujących projekty finansowane przez Uniwersytet Medyczny w Białymstoku (wykonawca w 23 projektach, kierownik w 7 projektach) oraz finansowanych na drodze konkursów krajowych (Konkurs Miniatura - kierownik i wykonawca).**

Kandydat odbył **staż podoktorski** w Maastricht University, Maastricht, Holandia – 1.09.2015-30.10.2015 – realizowany w laboratoriach Department of Biochemistry (Faculty of Health, Medicine and Life Science), w zespole Prof. Johana Heemskerka. Współpraca zaowocowała publikacją naukową. Kandydat jest członkiem Society for Redox Biology and Medicine - od 2019. Pełnił funkcję recenzenta publikacji naukowych w czasopiśmie międzynarodowych, między innymi w: *Antioxidants*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Biomedicines*, *Platelets*, *Acta Poloniae Pharmaceutica*.

Dr hab. n. med. Tomasz Misztal był wielokrotnie nagradzany za swoją pracę naukową przez Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Zdobywał również nagrody za prezentacje prac naukowych na konferencjach. Zdobył pierwszą nagrodę za najlepszą

prezentację ustną podczas XXVII Międzynarodowego Kongresu Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego, odbywającego się w Białymstoku, w panelu „Blood and hemostasis”; otrzymał również pierwszą nagrodę za najlepsze wystąpienie ustne podczas XV International Scientific Conference for Students and PhD Students "Youth and Progress of Biology" (Lwów 2019).

Kandydat w roku 2013 został stypendystą „Studiuje, badam, komercjalizuję” (na okres 12 miesięcy, grant UE nr UDAPOKL.08.02.01-20-069/11-00).

Podsumowując, zaprezentowana działalność naukowa Kandydata jest moim zdaniem znaczna i wskazuje na dalszy szybki, dobrze zaplanowany i systematycznie realizowany rozwój, dlatego oceniam działalność naukową bardzo pozytywnie i mogę potwierdzić, że dotychczasowy dorobek naukowy dr n. med. Tomasza Misztala ma duże znaczenie dla rozwoju nauk farmaceutycznych.

Osiągnięcia dydaktyczne

Dr n.med. Tomasz Misztal ma bardzo duże doświadczenie w pracy dydaktycznej. Jest zaangażowany w przygotowanie i prowadzenie zajęć dydaktycznych na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku dla studentów wielu kierunków. Za swoją pracę dydaktyczną został wyróżniony w 2019 r. tytułem „Najlepszy Nauczyciel Akademicki” (II stopnia) w konkursie studentów Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Od roku 2010 sprawuje opiekę naukową nad studentami. Pełnił funkcję opiekuna 11 prac magisterskich realizowanych na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, następnie funkcję promotora 13 prac magisterskich. Kandydat był również recenzentem 5 prac magisterskich. W czerwcu 2018 roku pełnił opiekę naukową w trakcie pobytu stypendystki FEBS (*The Federation of European Biochemical Societies*) w ramach realizacji grantu dla młodych naukowców. Sprawował również opiekę naukową nad doktorantem w charakterze promotora pomocniczego (doktorat zakończony z powodzeniem obroną rozprawy doktorskiej w 2021).

W mojej opinii Kandydat realizuje zadania dydaktyczne, oceniam Jego działalność dydaktyczną pozytywnie.

Osiągnięcia organizacyjne i popularyzujące naukę

Dr n.med. Tomasz Misztal wykazywał się również zaangażowaniem organizacyjnym w macierzystej uczelni będąc członkiem Wydziałowego Zespołu do Spraw Zapewnienia i Doskonalenia Jakości Kształcenia na kierunku Farmacja, na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej. Sprawuje również funkcję opiekuna I roku na kierunku Analityka Medyczna. Posiada osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki. Brał czynny udział w 22. Pikniku Naukowym na Stadionie Narodowym w Warszawie na stanowisku Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (2018). Był odpowiedzialny za organizację i prowadzenie pokazów dla uczniów szkół średnich „Elektryczność i magnetyzm w otaczającym nas świecie – zadziwiające właściwości cieczy, owoców i metali” (dwukrotnie w 2019). Brał czynny udział w Dniach Otwartych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (2022).

Wnioski końcowe

Na podstawie otrzymanych dokumentów wraz z załącznikami, po ich wnikliwym przeanalizowaniu, stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe, dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny **dr n. med. Tomasza Misztala** spełnia warunki określone w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z póź. zm.). Oceniane osiągnięcie naukowe obejmujące cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych pt. **„Reaktywne produkty stanu zapalnego – kwas chlorowy (I) i nadtlenoazotyn – jako modulatory hemostazy. Badania nad mechanizmem oddziaływania i kontrolą efektu”** wskazuje na oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i stanowi znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki farmaceutyczne.

Rekomenduję Naukowej Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku dr n. med. Tomasza Misztala do stopnia naukowego doktora habilitowanego w **d dziedzinie nauki medyczne i nauki o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.**

Prof. dr hab. n. med. Irena Baranowska-Bosiacka

