



09-04-2019
L. dz. DF-28/2019

Poznań, 30 kwietnia 2019 r.

Ocena osiągnięcia naukowego pt. „Charakterystyka biochemiczna metalotioneiny oraz jej status w komórkach MCF-7 traktowanych kompleksami fulerenów z doksorubicyną” oraz aktywności naukowej dr n. chem. Marty Kepińskiej w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk farmaceutycznych

Sylwetka Kandydatki

Pani Marta Kepińska ukończyła studia biotechnologiczne na Politechnice Wrocławskiej w roku 2003. Następnie, w ramach studiów doktoranckich, prowadziła w Zakładzie Biochemii Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej badania nad białkiem wiążącym hormon juvenilny, które zaowocowały obroną pracy doktorskiej w dziedzinie nauk chemicznych w zakresie biotechnologii w 2011 roku. Habilitantka ukończyła również studia podyplomowe z analityki medycznej, uprawniające ją do wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego. Dr Kepińska jest zatrudniona w Katedrze i Zakładzie Biomedycznych Analiz Środowiskowych na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu od czerwca 2009 roku, najpierw na stanowisku pracownika inżynierijno-technicznego, następnie asystenta, a od października 2011 roku – adiunkta.

Ocena osiągnięcia naukowego

Na osiągnięcie habilitacyjne składa się cykl pięciu prac, w tym cztery artykuły eksperymentalne oraz jeden artykuł poglądowy. Prace te zostały opublikowane w latach 2011-2018 w bardzo dobrych i dobrych czasopismach z listy JCR (IF w zakresie od 1,262 do 3,807). Sumaryczna wartość wskaźnika IF dla prac składających się na osiągnięcie habilitacyjne wynosi 14,058, a łączna liczba punktów MNiSW wynosi 137. Średni udział procentowy, jaki Autorka deklaruje w powstaniu prac zgłoszonych jako osiągnięcie habilitacyjne, wynosi 70%, i znajduje potwierdzenie w oświadczeniach współautorów. W przypadku wszystkich pięciu prac Autorka jest zarówno pierwszym autorem, jak i autorem do korespondencji. Wykazała się zatem znaczącym i dominującym wkładem zarówno w zakresie opracowania koncepcji badawczej,

przeprowadzenia eksperymentów i analizy wyników oraz przygotowania i korekty manuskryptów. Prace poddane już były profesjonalnej recenzji w trakcie procesu wydawniczego, więc ich wartość naukowa jest bezsporna.

Pewne wątpliwości budzi tytuł, przedłożonego do oceny, osiągnięcia („Charakterystyka biochemiczna metalotioneiny oraz jej status w komórkach MCF-7 traktowanych kompleksami fulerenów z doksorubicyną”). Pierwszy człon sugeruje szersze skupienie się na biochemicznych analizach metalotionein, podczas gdy prace nr 2 i 3 skupione były mniej na studiach biochemicznych, a bardziej na walidacji procedury analizy metalotionein z wykorzystaniem techniki elektroforezy kapilarnej, a praca nr 4 w dużej mierze koncentrowała się na charakterystyce fizykochemicznej nanocząstek (fulerenów ze związaną doksorubicyną). Niemniej jednak, we wszystkich pracach znajdują się odniesienia do oceny biochemicznej białek z grupy metalotionein w układach biologicznych.

Metalotioneiny są małymi białkami o dynamicznej strukturze przestrzennej, których cechą charakterystyczną jest wysoka zawartość reszt cysteiny, które determinują funkcje pełnione przez te białka w procesach komórkowych. W artykule poglądowym (pozycja I.B.1 w załączniku nr 3) Autorka zebrała informacje i wyczerpująco opisała biochemiczne znaczenie metalotionein, szczególnie ich role związane z wiązaniem i regulowaniem dostępności jonów cynku i miedzi, znaczenie w ochronie antyoksydacyjnej oraz interakcje metalotionein z innymi białkami, uwzględniając stany fizjologiczne i patologiczne. W kolejnych dwóch pracach (pozycje I.B.2 i I.B.3 w załączniku nr 3), dr Kepinska podjęła się scharakteryzowania metalotionein pochodzenia ludzkiego, króliczego, oraz, w mniejszym stopniu, końskiego, przy użyciu elektroforezy kapilarnej prowadzonej w kilku różnych warunkach, a także spektrometrii mas (MALDI-TOF-MS) i technik elektrochemicznych (reakcja Brdicka). Autorka wykazała między innymi obecność dimerów metalotionein, a także gatunkowe różnice w wartościach punktu izoelektrycznego oraz charakterystyce elektrochemicznej. Te dwie prace dowodzą dobrego opanowania warsztatu analitycznego oraz stanowią cenne uzupełnienie wiedzy na temat użyteczności technik elektroforezy kapilarnej w analizie metalotionein, a także na temat międzygatunkowych różnic we właściwościach tych białek.

Kolejne dwie prace cyklu (pozycje I.B.4 i I.B.5 w załączniku nr 3) łączą zainteresowania Kandydatki skupione wokół znaczenia metalotionein, z praktycznym zastosowaniem zdobyczy nanotechnologii w terapii przeciwnowotworowej. Celem tych prac była ocena właściwości fizykochemicznych nanocząstek fulerenu związanych z doksorubicyną oraz ich wpływu na komórki nowotworowe nowotworu piersi linii MCF-7. W pracy nr 4, Autorka oceniła wielkość uzyskanych nanocząstek, wydajność wiązania doksorubicyny przez cząstki C60 oraz stopień jej

uwalniania w zależności od wartości pH. Ponadto, oceniła efekt hemolityczny C60/DOX oraz wpływ na żywotność komórek MCF-7. Warto zwrócić uwagę, że zastosowany test MTT nie mierzy specyficznie proliferacji komórek, dlatego dla opisu wyników używać się powinno raczej terminu 'żywotność'. Kompleksy C60-DOX cechowały się nieznacznie słabszą indukcją hemolizy, a silniejszym obniżeniem żywotności komórek MCF-7 (choć brak danych na temat statystycznej istotności obserwowanych różnic). W artykule (strona 2376) Autorka odnosi się do wyznaczonych wartości IC50, jednak nie są przedstawione dane eksperymentalne, na podstawie których takie wartości zostały wyznaczone. Takie dane byłyby wartościowym uzupełnieniem opisanych wniosków. Na uwagę zasługuje zależna od pH zdolność do uwalniania leku przez kompleksy C60-DOX. W Autoreferacie Habilitantka odnosi takie właściwości tych nanocząstek do możliwości ich wykorzystania w celowanym dostarczaniu doksorubicyny do ogniska nowotworowego, ze względu na niższe pH panujące w guzach nowotworowych, w porównaniu z prawidłowymi tkankami. Opis mechanizmu takiej selektywności jest jednak nieprecyzyjny – rozmyciu ulega to, czy podstawą selektywności ma być obniżone pH w guzie nowotworowym, czy też niskie pH pęcherzyków endosomalnych i lizosomalnych. To drugie charakteryzuje każdą komórkę, więc nie powinno stanowić o celowanym podaniu leku. Niemniej, dużym osiągnięciem jest opracowanie technologii, która daje możliwość znaczącego ukierunkowania dystrybucji doksorubicyny do guzów litych. W pracy nr 5 Autorka podjęła się wyjaśnienia roli metalotionein i dysmutazy ponadtlenkowej w obserwowanym działaniu C60/DOX. Rycina 1 zawiera takie same dane, jak te, które zostały wcześniej zaprezentowane w artykule nr 4, jednak brak jest w tekście odniesienia do tej pracy. Wyniki, opisanych w pracy, eksperymentów, wskazały na zdolność C60 do obniżania poziomu metalotionein oraz aktywności SOD1, co może przekładać się na podwyższone działanie cytotoksyczne analizowanej nanoformulacji doksorubicyny w komórkach MCF-7. Takie efekty Autorka wiąże z właściwościami przeciwutleniającymi C60. Szkoda, że taka teza nie znalazła potwierdzenia eksperymentalnego – warto byłoby określić poziom RFT czy GSH/GSSG oraz porównawczo zastosować inhibitor i induktor aktywności SOD. Ciekawe byłoby sprawdzenie wpływu C60 na aktywację czynnika transkrypcyjnego Nrf2, który w dużej mierze kontroluje ekspresję metalotionein. Można mieć nadzieję, że Habilitantka w najbliższej przyszłości rozszerzy badania mechanizmu działania uzyskanych nanocząstek. Szczególnie istotne byłoby to dla weryfikacji hipotezy o redukcji chemiooporności komórek nowotworowych pod wpływem C60. Farmakologiczny mechanizm działania doksorubicyny częściowo związany jest z stymulacją powstawania RFT, na co odpowiedzią jest nasilona aktywność czynników antyoksydacyjnych, w tym metalotionein i SOD. Zatem warto byłoby takie efekty zbadać w komórkach MCF-7, w których indukowano

oporność na dokсорubicynę. Ciekawym aspektem jest potencjalna możliwość zmniejszenia kardiotoxyczności dokсорubicyny dzięki połączeniu z C60. Pytanie, czy za taki efekt bardziej odpowiedzialne byłoby zwiększone powinowactwo do ognisk nowotworowych, a przez to mniejszy wychwyт leku przez kardiomiocyty, czy może postulowane antyoksydacyjne właściwości C60. Działanie poprzez drugi mechanizm byłoby szczególnie interesujące, ponieważ miałyby, z jednej strony, nasilić cytotoxyczne efekty dokсорubicyny w komórkach nowotworowych, a z drugiej, zmniejszyć toxyczne działanie na komórki prawidłowe.

Żadne z powyższych uwag nie umniejszają wartości naukowej prac habilitacyjnych. Autorka, realizując taki całościowy projekt, wykazała się konsekwencją badawczą oraz bardzo dobrym przygotowaniem eksperymentalnym. Należy zwrócić uwagę na wysoką rzetelność podczas stosowania różnorodnych, zaawansowanych technik analitycznych. Habilitantka przykładnie pokazuje, jak doskonałe opanowanie warsztatu analitycznego umożliwia jego dobre wykorzystanie w badaniach biomedycznych. Na szczególną uwagę zasługuje wysoki poziom naukowy prac z obszaru nanotechnologii farmaceutycznej.

Ocena aktywności naukowej

Praca doktorska Habilitantki, przygotowana pod opieką naukową prof. dr hab. Mariana Kochmana, dotyczyła interakcji białka wiążącego hormon juwenilny z innymi białkami. Wyniki przedstawione w pracy doktorskiej zostały opublikowane w postaci trzech artykułów w bardzo dobrych czasopismach naukowych. Od tego czasu dorobek naukowy dr Kepinskiej znacząco się powiększył. Tematy badawcze, w których realizację była zaangażowana w Katedrze i Zakładzie Biomedycznych Analiz Środowiskowych na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu koncentrowały się wokół oceny efektów biologicznych narażenia na metale ciężkie czy składniki dymu tytoniowego, badań metalotionein i innych elementów związanych z obroną antyoksydacyjną wobec czynników wywołujących stres oksydacyjny, a w ostatnich latach, również syntezy, właściwości i biomedycznych zastosowań nanocząstek. W wielu z tych prac Habilitantka jest pierwszym lub drugim autorem.

Zwraca uwagę duży ogólny dorobek naukowy Kandydatki, na który składają się 24 artykuły oryginalne oraz 13 prac poglądowych, a także dwie prace opublikowane w suplementach czasopism i jeden rozdział w monografii w języku angielskim. Według zaprezentowanych danych bibliometrycznych, sumaryczna wartość wskaźnika IF dla całego dotychczasowego dorobku naukowego wynosi 97,054, zaś w przypadku punktacji MNiSW, sumaryczna wartość punktów wynosi 922. Całokształt dorobku jest zatem bardziej niż wystarczający w przypadku osoby na tym etapie kariery naukowej. Jej aktywność publikacyjna została trzykrotnie

nagrodzona przez Dziekana Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Wszystkie prace cytowane były dotychczas łącznie ponad 270 razy (około jedną szóstą stanowią autocytowania), co wskazuje na umiarkowaną cytowalność prac. Ważna jest jednak wysoka wartość indeksu Hirscha ($H=11$), który osiągnęła Habilitantka. Dr Kepinska była również aktywnym uczestnikiem wielu konferencji krajowych i zagranicznych, co związane jest z prezentacją 47 komunikatów zjazdowych. Za swoją aktywność naukową dr Kepinska została kilkakrotnie nagrodzona przez JM Rektora Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (cztery nagrody zespołowe oraz jedna nagroda indywidualna).

Habilitantka była wykonawcą badań w trzech grantach finansowanych przez NCN lub MNiSW, a kierownikiem jednego projektu dla młodych naukowców. Ponadto, dr Kepinska była kierownikiem projektu po stronie polskiej w międzynarodowym grantie wyszehradzkim, związanym z utworzeniem Sieci Naukowej w Metalomice. Szkoda, że Kandydatka nie wykazała się większą skutecznością w pozyskaniu funduszy na autorskie projekty, choć w roku 2013 uzyskała dyplom menedżera projektu badawczo-rozwojowego. Można mieć jednak nadzieję, że Habilitantka wykaże się aktywnością w tworzeniu projektów i pozyskiwaniu funduszy na własne badania w najbliższej przyszłości. Habilitantka już wykazała się zaangażowaniem w kształcenie młodych pracowników nauki, o czym świadczy między innymi pełnienie przez nią funkcji promotora pomocniczego w zakończonym przewodzie doktorskim dr Marty Wrześniak. Na podkreślenie zasługuje bogata współpraca międzynarodowa Habilitantki. Dr Kepinska odbyła kilka krótkich (najkrótsze – tydzień, najdłuższy – trzy miesiące) staży w ośrodkach zagranicznych (Uniwersytet Weterynarii i Nauk Farmaceutycznych, Uniwersytet Mendla, Brno; INSERM, Tuluza). Trzykrotnie zdobyła także prestiżowe stypendium konferencyjne w celu uczestniczenia w kongresach organizowanych przez Federację Europejskich Towarzystw Biochemicznych (FEBS).

Co bardzo cenne, dr Kepinska była również bardzo aktywna w roli recenzenta – przygotowała 38 recenzji prac zgłoszonych do redakcji międzynarodowych czasopism naukowych. Była również recenzentem czterech projektów badawczych dla Czeskiej Fundacji Nauki. Świadczy to o tym, że Kandydatka jest rozpoznawana w kraju i za granicą jako ekspert w swojej dziedzinie.

Ocena działalności organizacyjnej i dydaktycznej

Kandydatka wykazała się bogatą i wielokierunkową działalnością organizacyjną. Dr Kepinska opiekuje się Pracownią Elektroforezy Kapilarnej przy Katedrze Biomedycznych Analiz Środowiskowych i prowadziła szkolenia dla doktorantów z techniki CE. Angażuje się również w prace organizacyjne w ramach kilku komisji powołanych na Uniwersytecie Medycznym we

Wrocławiu. Jest również aktywnym dydaktykiem. Poza prowadzeniem obowiązkowych zajęć laboratoryjnych z przedmiotu Toksykologia, prowadzi również fakultatywne autorskie zajęcia „Mutageneza środowiskowa”. Nadzoruje także pracę naukową studentów w ramach Studenckiego Koła Naukowego działającego przy Katedrze Biomedycznych Analiz Środowiskowych. Była również promotorem lub opiekunem łącznie 18 prac magisterskich.

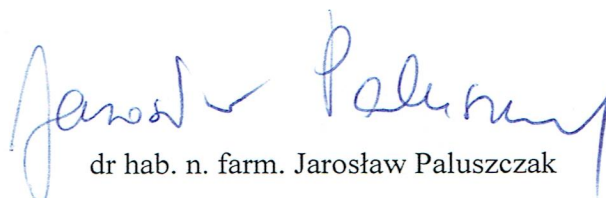
Habilitantka była członkiem komitetu naukowego konferencji “Wpływ związków toksycznych na zdrowie ludzi i zwierząt” zorganizowanej przez Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu w 2017 roku. Kandydatka wykazała się także dużym zaangażowaniem w popularyzację nauki. Kilka razy brała czynny udział w Dolnośląskim Festiwalu Nauki, a także w obchodach Ogólnopolskiego Dnia Biotechnologii.

Dr Kepinska figuruje jako członek komitetów redakcyjnych dwóch czasopism naukowych: *International Journal of Biology and Biological Sciences* oraz *International Journal of Therapeutic Applications*. Żadne z nich nie znajduje się jednak aktualnie w wykazie Index Copernicus. Pewne zastrzeżenia budzi pierwsze z nich (brak międzynarodowej rozpoznawalności, brak aktualnych numerów czasopisma na stronie internetowej), dlatego warto być może rozważyć rezygnację z pełnionej funkcji, aby nie wspierać czasopisma o trudnej do zweryfikowania jakości naukowej.

Podsumowanie

Przedłożone przez Kandydatkę osiągnięcia naukowe, składające się z pięciu, spójnych tematycznie artykułów, opublikowanych w dobrych czasopismach naukowych z listy JCR, stanowi jej znaczący, oryginalny wkład w rozwój nauk farmaceutycznych. Konsekwentne badania nad metalotioneinami doprowadziły do stworzenia nanocząstek, które mogą potencjalnie znaleźć zastosowanie w celowanej terapii przeciwnowotworowej. Pani dr Kepinska prezentuje cechy samodzielności naukowej i spełnia wymagania stawiane osobom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk farmaceutycznych.

Zwracam się zatem do Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie dr n. chem. Marty Kepinskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego.


dr hab. n. farm. Jarosław Paluszczak