

Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Kmieć  
Kierownik Katedry i Zakładu Histologii  
Gdański Uniwersytet Medyczny w Gdańsku



Gdańsk, 9.12.2019

## OCENA

**całokształtu dorobku naukowego dr n. med. Małgorzaty Drąg-Zalesińskiej, ze  
szczególnym uwzględnieniem osiągnięcia naukowego pt.**

**„Potencjalne możliwości zastosowania pochodnych betuliny w terapii”**

### Ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy dr n. med. Małgorzaty Drąg-Zalesińskiej obejmuje łącznie 35 publikacji o sumarycznym współczynniku oddziaływania IF 38,145 i punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego 451. Na ten wartościowy dorobek składa się 29 prac oryginalnych, 1 praca pogładowa (Habilitantka jest w niej pierwszym autorem) oraz 5 rozdziałów w krajowych podręcznikach. Ponadto dr M. Drąg-Zalesińska jest autorem lub współautorem 61 streszczeń zjazdowych (19 dotyczy konferencji międzynarodowych, a 42 zjazdów krajowych). Łączna liczba cytowań wynosi 425 (bez autocytowań – 409), zaś indeks *h* wg bazy Web of Science wynosi 13. Dr Małgorzata Drąg-Zalesińska jest też współautorem 3 patentów krajowych (2008, 2012, 2018 r.)

Dr M. Drąg-Zalesińska ukończyła studia lekarskie w 1989, zaś w 1998 r. uzyskała stopień doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy pt. *„Ocena rodzaju śmierci komórek w nowotworach płuc pod wpływem cytostatyków w warunkach in vitro”*. Promotorem rozprawy był Pan Profesor dr hab. Maciej Zabel.

Dr M. Drąg-Zalesińska uzyskała pierwszy stopień specjalizacji w zakresie dermatologii i wenerologii w 1993 r., a dyplom specjalisty drugiego stopnia w tej dziedzinie w 2001 roku.

Od 1989 roku do teraz dr M. Drąg-Zalesińska zatrudniona jest w Katedrze Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, obecnie na stanowisku adiunkta. Od 3 lat uczestniczy też jako współbadacz w badaniach klinicznych prowadzonych przez Centrum Medyczne ADAMAR we Wrocławiu.

## Ocena osiągnięcia naukowego

W skład rozprawy habilitacyjnej dr M. Drąg-Zalesińskiej zatytułowanej „*Potencjalne możliwości zastosowania pochodnych betuliny w terapii*” wchodzi powiązane ze sobą tematycznie trzy prace oryginalne o łącznym współczynniku oddziaływania IF wynoszącym 8,936, jedna praca pogładowa oraz patent o nazwie „*Zastosowanie pochodnej betuliny do wytwarzania preparatu do stymulowania syntezy kolagenu*” i numerze PAT.228855 udzielony przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej w 2018 roku. Prace zostały opublikowane w latach 2009-2019, przy czym we wszystkich z nich, a także w patencie przyznanym zespołowi badaczy, Habilitantka jest pierwszym autorem. Sumaryczna punktacja osiągnięcia habilitacyjnego wyraża się liczbą punktów MNiSW/KBN wynoszącą 113.

Najważniejszą, liczącą 15 stron, część autoreferatu dr n. med. Małgorzaty Drąg-Zalesińskiej stanowi krytyczne przedstawienie w postaci streszczeń czterech artykułów i opisu patentowego wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Wszystkie te publikacje odnoszą się do właściwości przeciwnowotworowych pochodnych kwasu betulinowego, naturalnej pochodnej betuliny, którego właściwości cytotoksyczne opisano po raz pierwszy w 1995 r. w doświadczeniach przeprowadzonych przez Pish i wsp. na jednej z linii czerniaka i na myszach. Odkrycie to spowodowało rosnące zainteresowanie właściwościami biologicznymi kwasu betulinowego i betuliny, jednego z triterpenów powszechnie występującym w świecie roślin, których mechanizm działania przeciwnowotworowego opiera się na trzech zjawiskach: (i) zahamowaniu aktywności topoizomerazy I i II, (ii) aktywacji mitochondrialnego szlaku apoptozy oraz (iii) hamowaniu angiogenezy. Ponieważ betulina nie jest rozpuszczalna, a kwas betulinowy słabo rozpuszczalny w wodzie, wykorzystanie ich właściwości w układach biologicznych możliwe jest po zmodyfikowaniu struktury chemicznej tych związków. Sytuacja ta stała się punktem wyjścia do podjęcia badań przez dr Małgorzatę Drąg-Zalesińską we współpracy z zespołem Profesora Józefa Oleksyszyna z Wydziału Chemii Politechniki Wrocławskiej oraz z zespołem Profesor Jolanty Saczko z Katedry i Zakładu Biologii Molekularnej i Komórkowej Wydziału Farmaceutycznego macierzystej Uczelni nad właściwościami przeciwnowotworowymi nowo zsyntetyzowanych pochodnych betuliny i kwasu betulinowego o większej biodostępności i większej efektywności cytotoksycznej.

**W pierwszej publikacji** wchodzącej w cykl prac osiągnięcia habilitacyjnego przedstawiono opis syntezy i struktury uzyskanych pochodnych, które cechowały się dobrą i bardzo dobrą rozpuszczalnością w wodzie i mediach stosowanych do hodowania komórek in vitro. W badaniach przeprowadzonych metodą kometkową Habilitantka wykazała, że dwie pochodne betuliny oraz jedna pochodna kwasu betulinowego indukowały apoptozę w linii komórkowej raka trzustki oraz w linii komórkowej raka żołądka wrażliwych na daunorubicynę.

**W drugiej publikacji** wchodzącej w cykl prac osiągnięcia habilitacyjnego dr M. Drąg-Zalesińska wykazała, że zyskane wcześniej wyniki stały się punktem wyjścia do podjęcia syntezy innych pochodnych betuliny i kwasu betulinowego i oceny ich potencjalnych właściwości leczniczych w modelu in vitro rogowacenia słonecznego, choroby skóry, uważanej obecnie za raka in situ, której częstość występowania rośnie wraz z postępującym starzeniem się społeczeństw w krajach wysokorozwiniętych. Jednocześnie związki te były przez Habilitantkę testowane pod względem ich właściwości cytotoksycznych wobec komórek raka kolczystokomórkowego oraz linii prawidłowych ludzkich keratynocytów. Wykazała Ona, że nowo opracowane pochodne wykazywały działanie apoptotyczne wobec komórek nowotworowych i brak toksyczności w stosunku do prawidłowych komórek naskórka. Uzyskane wyniki wskazują więc na to, że zsyntetyzowane pochodne betuliny i kwasu betulinowego mogą stanowić podstawę do opracowania formuły nowych leków stosowanych w terapii rogowacenia słonecznego.

**W trzeciej oryginalnej publikacji** wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego, dr M. Drąg-Zalesińska przedstawiła ocenę aktywności przeciwnowotworowej pięcioelementowego zestawu pochodnych betuliny wobec komórek ludzkiego czerniaka linii Me45 w celu ich potencjalnego terapeutycznego przy pomocy techniki elektrochemioterapii. W metodzie tej wykorzystywane jest zjawisko odwracalnej elektroporacji do uzyskania wyższego stężenia chemioterapeutyku (bleomycyny lub cisplatyny) we wnętrzu komórek nowotworowych. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń Habilitantka wyselekcjonowała trzy pochodne o najwyższej cytotoksyczności w stosunku do komórek ludzkiego czerniaka, które jednocześnie posiadają bardzo dobrą rozpuszczalność w wodzie. Ustalono, że związki te niszczą komórki nowotworowe na drodze niezależnej od kaspazy-3, przy czym poznanie mechanizmów molekularnych tego efektu wymaga dalszych badań.

**Czwarta publikacja** włączona do prac składających się na osiągnięcie naukowe dotyczyła oceny wpływu nowych pochodnych betuliny na stymulację syntezy kolagenu w

ludzkich prawidłowych fibroblastach. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów, które stały się podstawą zgłoszenia patentowego w 2015 r., a następnie udzielenia patentu przez Urząd Patentowy RP w 2018 r., ustalono, że jedna z pochodnych betuliny wywiera wspomniany efekt znacznie silniej niż dwie inne. Habilitantka odsyła czytelników Autoreferatu do szczegółowego opisu przeprowadzonych badań, który jest zawarty w opisie patentowym PL 228855 B. Rezultaty tych doświadczeń podsumowane w patencie krajowym mogą okazać się przydatne do stosowania pochodnej betuliny najbardziej efektywnej w stymulowaniu syntezy kolagenu do wytwarzania preparatów o potencjalnym zastosowaniu w celu przyspieszenia procesów regeneracyjnych błon śluzowych lub skóry.

W pracy poglądowej (pozycja 4 cyklu habilitacyjnego) dr M. Drąg-Zalesińska wraz z dr S. Borską podsumowały aktualny (w roku 2019) stan wiedzy na temat właściwości biologicznych pochodnych betuliny i kwasu betulinowego, przeprowadzonych badaniach klinicznych, potencjalnego zastosowania w terapii wraz z opisem preparatów już wprowadzone do leczenia.

Zwięźle podsumowanie tych prac habilitantka przedstawiła w postaci 7 wniosków. Należy podkreślić, że tematyka badawcza podjęta przez dr Małgorzatę Drąg-Zalesińską w pracach doświadczalnych i opisie patentowym ma duże znaczenie naukowe i praktyczne, ponieważ uzyskane wyniki dostarczyły oryginalnych obserwacji, cytowanych w piśmiennictwie światowym. Umiejętność jednoczesnego stosowania szeregu nowoczesnych metod badawczych stanowi wyróżniającą cechę wszystkich prac doświadczalnych, w których uczestniczyła Habilitantka. Należy tutaj podkreślić, że dzięki inicjatywnie Pana Profesora Macieja Zabła, dr Drąg-Zalesińska zorganizowała w Katedrze Histologii i Embriologii pracownię kometkową, zaś opanowana przez Nią perfekcyjnie metoda kometkowa pozostaje do dziś jednym z najważniejszych narzędzi badawczych w Katedrze kierowanej obecnie przez Pana Profesora Piotra Dzięgiela.

W podsumowaniu oceny osiągnięcia naukowego dr n. med. Małgorzaty Drąg-Zalesińskiej mogę stwierdzić, że składające się na nie publikacje przyniosły szereg oryginalnych obserwacji, które w znaczący sposób pogłębiły wiedzę dotyczącą właściwości przeciwnowotworowych kilkunastu syntetycznych pochodnych betuliny i kwasu betulinowego. Dane te mogą być wykorzystane do opracowania nowej kategorii leków przeciwnowotworowych, które mogłyby wspomagać obecnie stosowane formy chemio- i

radioterapii. Uważam, że jednorodny charakter, wartość metodyczna i merytoryczna prac stanowiących podstawę rozprawy habilitacyjnej udowadniają, że ich główna autorka jest dojrzałym badaczem zdolnym do podjęcia samodzielnej pracy naukowej i kierowania rozwojem młodych pracowników nauki.

### **Ocena pozostałego dorobku naukowego**

Zainteresowania naukowe dr M. Drąg-Zalesińskiej związane są z biologią nowotworów i dotyczą kilku zakresów tematycznych. Przed ich omówieniem warto zaznaczyć, że dr M. Drąg-Zalesińska posiada niezbyt często spotykaną umiejętność współpracy z naukowcami zasadniczo innych specjalności niż jej własne usytuowanie w dziedzinie badań biologiczno-medycznych. Dzięki temu jest Ona współautorką szeregu wartościowych publikacji naukowych o charakterze interdyscyplinarnym, które, sądząc po znacznej liczbie cytowań (indeks *h*) i wysokim współczynniku oddziaływania (IF), wzbudziły żywe zainteresowanie w świecie nauki. Do tematów podejmowanych w czasie swojej trzydziestoletniej drogi badawczej należy poszukiwanie nowych substancji o właściwościach przeciwnowotworowych w ramach współpracy z zespołem chemików z Politechniki Wrocławskiej. Współpraca z tym zespołem doprowadziła Habilitantkę, jak zaznacza to w autoreferacie, do zainteresowania się betulina i zaowocowała uzyskaniem trzech patentów o krajowym zasięgu terytorialnym (2008, 2012 i 2018).

Dr M. Drąg-Zalesińska intensywnie współpracowała i nadal współpracuje z badaczami w macierzystej Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii oraz z zespołem badawczym Profesor J. Saczko z Katedry i Zakładu Biologii Molekularnej i Komórkowej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. W ramach współpracy z dr M. Borską z Katedry Histologii oraz z zespołem kierowanym przez Profesor J. Saczko, Habilitantka uczestniczyła w eksploracji kilku zagadnień ważnych pod względem biologiczno-medycznym. Należy tu wymienić poznawanie mechanizmów zjawiska oporności wielolekowej (MDR) na modelu linii komórkowej ludzkiego raka żołądka wrażliwej lub odpornej na daunorubicynę, które były inkubowane z różnymi stężeniami kwercetyny. W efekcie tych badań, oraz podobnych do nich, ale przeprowadzonych na liniach komórkowych raka trzustki i gruczołka piersi wykazano, że kwercetyna, resweratrol i pochodne fenotiazyny mogą być potencjalnie wykorzystane jako modulatory MDR w leczeniu nowotworów. Inne istotne zagadnienie, przy

którego eksploracji współpracowała dr M. Drąg-Zalesińska, to eksperymentalne metody przeciwnowotworowe z zastosowaniem terapii fotodynamicznej, elektroporacji i elektrochemioterapii w warunkach *in vitro*. Badacze ci wykazali m.in., że terapia fotodynamiczna w połączeniu z elektroporacją skutecznie indukuje apoptozę zarówno w komórkach linii melanotycznej, jak i amelanotycznej czerniaka. Z kolei badania na komórkach drobnokomórkowego raka płuc opornego na adriamycynę, a więc na linii H69AR pokazały, że elektrochemioterapia może stanowić terapię wspomagającą zastosowanie cisplasty i winorebliny w leczeniu tego groźnego nowotworu. Kolejnym zagadnieniem, przy rozwiązywaniu którego dr M. Drąg-Zalesińska współpracowała z kolegami z macierzystej Katedry a także z badaczami z Instytutu Patologii Szpitala Charite Uniwersytetu w Berlinie, stanowiło poszukiwanie nowych czynników prognostycznych i predykcyjnych w raku jajnika w oparciu o archiwalny materiał kliniczny jak i w odniesieniu do linii komórkowych wyprowadzonych z tego nowotworu.

Swoje osiągnięcia badawcze Dr M. Drąg-Zalesińska prezentowała na 61 konferencjach – 19 międzynarodowych i 42 krajowych. Udział w konferencjach naukowych dokumentuje umiejętność Habilitantki nawiązywania współpracy z badaczami różnych specjalności w ramach opanowanego przez siebie warsztatu metodycznego.

W podsumowaniu oceny dorobku naukowego dr n. med. Małgorzaty Drąg-Zalesińskiej innego niż zakwalifikowany do osiągnięcia naukowego, mogę stwierdzić, że jest on znaczący, co potwierdza analiza bibliometryczna zaliczonych do niego prac (IF 29,209 po wyłączeniu prac wchodzących w skład osiągnięcia). Dorobek ten cytowany jest szeroko w piśmiennictwie światowym (wg bazy Web of Science w latach 1999-2019 prace, których współautorem była dr M. Drąg-Zalesińska, cytowane były 425 razy). Poza wartościami merytorycznymi, takimi jak oryginalne obserwacje opublikowane w impaktowanych czasopismach naukowych, prace te świadczą o zdolności dr do nawiązywania i realizowania efektywnej współpracy naukowej z różnymi zespołami badawczymi na bazie zainteresowania podobną tematyką badań oraz pełnego wykorzystania opanowanego przez Habilitantkę warsztatu badawczego.

## **Ocena działalności dydaktycznej**

Dr Małgorzata Drąg-Zalesińska aktywnie uczestniczy od 1989 roku w aktywności dydaktycznej macierzystej Katedry jako asystent i obecnie adiunkt. Prowadzi zajęcia (ćwiczenia kierunkowe niekliniczne, seminaria oraz wykłady) z następujących przedmiotów: (1) histologia z cytofizjologią dla studentów I i II roku Wydziału Lekarskiego; (2) embriologia człowieka dla studentów I roku Wydziału Lekarskiego; (3) histologia z embriologią dla studentów I i II roku Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego; (4) histologia dla studentów I/II roku analityki medycznej; (5) embriologia człowieka – zajęcia fakultatywne dla studentów I/II roku analityki medycznej.

Habilitantka była współautorką dwóch skryptów dla studentów opracowanych w 1994 r. przez zespół Katedry Histologii i Embriologii AM pod redakcją Profesora Macieja Zabła. Jest też współautorem rozdziałów „Tkanka łączna” i „Skóra” w podręczniku „Histologia: podręcznik dla studentów medycyny i stomatologii; wydany pod redakcją Profesora M. Zabła w 2004 i 2013 roku.

Od 2009 roku dr Małgorzata Drąg-Zalesińska pełni funkcję adiunkta dydaktycznego Zakładu Histologii i Embriologii Katedry Morfologii Człowieka (od 2017 roku Katedra i Zakład Histologii i Embriologii). Obszerny zakres pełnionych przez Habilitantkę zadań oraz osiągnięcia w działalności dydaktycznej wskazują na Jej uzdolnienia w tym zakresie, co przypuszczać, że będzie się Ona w przyszłości przyczyniać się do rozwoju młodej kadry naukowo-dydaktycznej.


## **Działalność naukowo-organizacyjna**

Dr Małgorzata Drąg-Zalesińska jest od wielu lat członkiem Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików i aktywnie uczestniczy w pracach Wrocławskiego Oddziału Towarzystwa. Jest też członkiem Polskie Towarzystwa Dermatologicznego, International Dermoscopy Society i Polskiego Towarzystwa Biologii Komórki. W latach 1989-2018 Habilitantka aktywnie uczestniczyła w 61 konferencjach i zjazdach naukowych, czego dowodem są zamieszczone w dorobku streszczenia komunikatów.

## Podsumowanie

Oceniając dorobek naukowy oraz osiągnięcie naukowe dr n. med. Małgorzaty Drąg-Zalesińskiej stwierdzam, że stanowią one oryginalny i ważny wkład w rozwój nauki, a szczególnie w wyjaśnienie właściwości przeciwnowotworowych nowej klasy związków cytotoksycznych, jakimi są betulina, kwas betulinowy oraz ich syntetycznie uzyskane pochodne, które były przedmiotem badań dr Małgorzaty Drąg-Zalesińskiej. Dorobek naukowy Habilitantki mieści się w zawsze aktualnym nurcie poszukiwań nowych związków o właściwościach przeciwnowotworowych i wzbogaca je o istotne informacje i hipotezy badawcze.

Przedstawiona powyżej pozytywna ocena zarówno rozprawy osiągnięcia naukowego, jak i pozostałej części dorobku naukowego jest podstawą mojego wniosku, który kieruję do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, o dopuszczenie dr Małgorzaty Drąg-Zalesińskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

**K I E M I O W N I K**  
Katedry i Zakładu Histologii  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego  
  
*prof. dr hab. n. med. Zbigniew Kmiec*  
Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Kmiec