



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	03-12-2019
Lp. dz. RP-OM/	170/2019

## Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej

Szczecin, 29.11.2019

Prof. dr hab. Mateusz Kurzawski  
Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

VIDI  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE  
przewodniczący  
prof. dr hab. Grzegorz Mazur

### Ocena osiągnięć naukowo-badawczych oraz dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego dr Marcina Kończakowskiego

Niniejsza recenzja została przygotowana na podstawie materiałów przesłanych przez Prodziekana ds. Nauki Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie: biologia medyczna. Oceny dokonano zgodnie zapisami ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity: Dz. U. z 2017 r. poz. 1789.), uwzględniając kryteria wskazane w rozporządzeniu MNiSW z dnia 1 września 2011 r. (Dz. U. nr 196 z 2011r., poz. 1165).

Dr Marcin Kończakowski jest absolwentem biotechnologii na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego (1992), na tej samej uczelni uzyskał też dyplom doktora nauk biologicznych (1997). Po ukończeniu studiów przez kilka lat prowadził badania naukowe w Laboratorium Biochemii Fizjologicznej Université Catholique de Louvain w Belgii (1992-98), a od roku 1999 pracuje jako adiunkt w Katedrze i Zakładzie Biofizyki Akademii Medycznej (a obecnie Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu. W latach 2001-2003 odbył staż podoktorski w Zakładzie Fizjologii i Biofizyki University of Iowa. Dorobek naukowy dr Marcina Kończakowskiego jest wyjątkowo spójny, praktycznie w całości dotyczy różnych aspektów molekularnych mechanizmów lekooporności drożdży. Kandydat bardzo efektywnie wykorzystał każdy z dotychczasowych etapów kariery do konsekwentnego rozwoju, wykorzystując kolejne nowoczesne metody badawcze do

pogłębiania wiedzy na ten temat. Analiza przedstawionej dokumentacji wskazuje, że dr Marcin Kołaczkowski jest niewątpliwym ekspertem w zakresie oporności wielolekowej mikroorganizmów.

### **Ocena osiągnięcia naukowego, będącego podstawą wniosku**

Jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę wszczęcia postępowania habilitacyjnego dr Marcin Kołaczkowski wskazał cykl powiązanych tematycznie publikacji, opatrzonych wspólnym tytułem „*Oporność wielolekowa i transportery wielolekowe ABC- wyzwanie współczesnej chemioterapii*”. Cykl ten składa się z siedmiu publikacji zamieszczonych w latach 2003-2013 w recenzowanych czasopismach z bazy JCR, o łącznej punktacji 180 pkt. MNiSW oraz sumarycznej wartości współczynnika oddziaływania  $IF=21,74$ . Prace stanowiące osiągnięcie naukowe były, wg. dołączonej do wniosku dokumentacji, cytowane łącznie 132 razy. Habilitant jest pierwszym autorem sześciu prac oraz autorem do korespondencji siódmej pracy, ocenił swój wkład w powstanie każdej z nich na od 40% do 90%. Pod względem wartości bibliometrycznej, przedstawione osiągnięcie spełnia, wg. mojej opinii, kryteria dot. osiągnięcia naukowego wg. Ustawy, a także znacznie przekracza wymogi wskazane w Uchwale nr 230/II/2015 Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z dnia 18 lutego 2015r. w sprawie rekomendacji dotyczących kryteriów do oceny dorobku naukowego uprawniającego do wszczęcia i przeprowadzenia postępowań o nadanie stopni i tytułu naukowego. Wskazane osiągnięcie stanowi dobrze udokumentowaną podstawę do wszczęcia postępowania habilitacyjnego.

Cykl prac stanowi niewątpliwie najbardziej autorską i cenną część dorobku naukowego dr. Marcina Kołaczkowskiego po uzyskaniu stopnia doktora. Publikacje dotyczą niezwykle aktualnego i ważnego zjawiska oporności mikroorganizmów na leki, które dotyczy nie tylko patogenów bakteryjnych, ale także grzybowych. Badania prowadzone przez habilitanta są przekrojowe, dotyczą wielu aspektów lekooporności, od ich molekularnych podstaw i mechanizmów regulacyjnych, przez kwestie opracowania narzędzi do oceny konsekwencji nadekspresji poszczególnych transporterów wielolekowych, użycia tych narzędzi i modeli do określenia wrażliwości na substancje aktywne (fenotiazyny i zawarte w surowcach roślinnych), aż do funkcjonalnej analizy mutacji w genach kodujących białka ABC. Opisane badania imponują liczbą przeprowadzonych doświadczeń i pomiarów oraz zastosowanymi zaawansowanymi technikami laboratoryjnymi.

W pracy „Differential regulation of ceramide synthase components LAC1 and LAG1 in *Saccharomyces cerevisiae*” habilitant wykazał udział czynnika transkrypcyjnego Pdr1p (związanego z indukcją ekspresji transporterów ABC i lekoopornością) w regulacji ekspresji genów związanych z syntezą ceramidów w modelowym organizmie – drożdżach piekarskich. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów, w tym wprowadzenia modyfikacji genetycznych w obrębie rejonów promotorowych, sformułował wniosek dotyczący skoordynowanej regulacji ekspresji transporterów błonowych i składników lipidowych błon.

W kolejnej pracy, „Phenothiazines as potent modulators of yeast multidrug resistance”, używając szeregu szczepów drożdży, w tym charakteryzujących się lekoopornością oraz pozbawionych ekspresji wybranych transporterów ABC, przeanalizowano synergistyczny efekt antyproliferacyjny wybranych fenotiazyn w połączeniu z ketokonazolem – jednym z podstawowych leków przeciwgrzybiczych. Analiza różnych pochodnych pozwoliła na identyfikację wpływu modyfikacji chemicznych fenotiazyny na potencjał przewyciężenia oporności na ketokonazol. Co ciekawe, na potrzeby badania habilitant, poprzez wprowadzenie mutacji typu „*gain of function*” w genie kodującym czynnik transkrypcyjny Pdr1p, uzyskał szczep drożdży o zwiększonej ekspresji transportera Pdr5p. Ketokonazol jest substratem dla tego transportera, uzyskany szczep stanowi ciekawy model do badań nad lekoopornością na leki azolowe.

Bardzo ciekawa i dość złożona metodycznie jest praca „New High-Throughput Screening Assay To Reveal Similarities and Differences in Inhibitory Sensitivities of Multidrug ATP-Binding Cassette Transporters”. Habilitant przedstawił w niej opracowanie i zastosowanie nowej metody pomiaru transportu przez grzybowe białka z rodziny ABC, zarówno natywne, jak i heterologiczne. W toku badań zaprojektowano, a następnie posługując się metodami inżynierii genetycznej uzyskano szereg szczepów *S.cerevisiae* wykazujących selektywną ekspresję pojedynczych transporterów ABC związanych z transportem leków (delecje innych genów z tej rodziny), a także (z wykorzystaniem regulonu Pdrp1) wytworzono szczepy o nadekspresji tych receptorów. W konsekwencji powstał unikatowy model, możliwy do wykorzystania w badaniach dotyczących udziału poszczególnych transporterów (także pochodzących od gatunków patogennych) w eliminacji z komórki różnych leków i kandydatów na leki, a także świetne narzędzie do badania mechanizmów lekooporności. Jak podkreśla dr Kończkowski, w przeciwieństwie do żmudnego i pracochłonnego procesu opracowania nowej metody, jej zastosowanie cechuje się prostotą i łatwością manipulacji, wysoką swoistością i przewagą nad metodami wykorzystującymi frakcje subkomórkowe. Jako przykład

wykorzystania nowej metody, w pracy oceniono potencjał szeregu pochodnych fenotiazyny do hamowania aktywności różnych transporterów z rodziny ABC.

Kolejne trzy prace zawierają wyniki badania przeciwgrzybiczej aktywności szeregu ekstraktów roślinnych z wykorzystaniem rekombinowanych szczepów drożdży o różnym poziomie ekspresji poszczególnych transporterów odpowiedzialnych za oporność na leki, w tym transportera charakterystycznego dla patogennych szczepów *C. albicans*. Badane ekstrakty roślinne pochodziły z wybranych roślin o działaniu przeciwgrzybiczym. Uzyskane wyniki stanowią bardzo cenny wkład w rozwój wiedzy na temat lekooporności patogenów grzybowych. Badania mogą przyczynić się do identyfikacji substancji o aktywności antyproliferacyjnej, a także takich, które jako selektywne inhibitory białek ABC, mogłyby znaleźć zastosowanie w leczeniu grzybic, nasilając wrażliwość patogena na obecnie stosowane leki (np. azolowe) i w konsekwencji zwiększając skuteczność terapii.

W ostatniej pracy z cyklu, "A conserved interdomain communication pathway of pseudosymmetrically distributed residues affects substrate specificity of the fungal multidrug transporter Cdr1", przeprowadzono nowatorskie badania molekularne, dotyczące identyfikacji reszt aminokwasowych, istotnych w procesie długodystansowej komunikacji pomiędzy różnymi domenami drożdżowych transporterów ABC z podrodziny PDR. Bardzo interesująca była strategia przyjęta w badaniach, gdzie zamiast wprowadzania określonych mutacji w genach kodujących białka transporterów, przeprowadzono selekcję przypadkowych mutantów przy pomocy wcześniej zidentyfikowanego substratu dla transportera Snq2p. Uzyskane wyniki dotyczące roli poszczególnych domen w funkcjonowaniu transportera oporności wielolekowej mogą mieć szersze znaczenie, ze względu na konserwatywne mechanizmy komunikacji w ewolucyjnie odległych grupach transporterów ABC.

Relatywnie duża liczba cytowań dodatkowo podkreśla wartość naukową i zainteresowanie środowiska naukowego tematyką przedstawionego do oceny dorobku. Jedyna moja uwaga odnosi się do tytułu nadanemu cyklowi publikacji, w mojej opinii należałoby go doprecyzować. Podanie w tytule cyklu faktu, że prace dotyczyły drożdżaków (czy też oporności patogenów grzybowych na leki) byłoby wskazane, ponieważ w naukach medycznych łączne zestawienie pojęć: „oporność wielolekowa – transportery ABC – chemioterapia” większości badaczy dość jednoznacznie będzie kojarzyć się badaniami dotyczącymi terapii nowotworów.

Należy podkreślić, że prace stanowiące podstawę wniosku imponują liczbą wykonanych doświadczeń i analiz, a także zastosowaniem różnorodnych technik i narzędzi, co z kolei wymagało nawiązania współpracy pomiędzy kilkoma ośrodkami i świadczy o dużym talencie organizacyjnym głównego badacza. W pracach wykorzystano nowoczesne metody badawcze z zakresu biologii molekularnej, inżynierii genetycznej oraz analizy instrumentalnej, między innymi w celu przeprowadzenia ukierunkowanej mutagenyzy, klonowania, transfekcji, analizy RNA, analizy białek, sekwencjonowania DNA czy też pomiarów aktywności enzymatycznej. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład habilitanta w rozwój wiedzy na temat lekooporności oraz całej dyscypliny naukowej. Badania wykonano częściowo w ramach realizacji projektów badawczych finansowanych przez MNiSW/NCN, w tym projektu, którego dr Kończkowski był kierownikiem. Publikacja wyników w dobrych czasopismach z bazy JCR wskazuje na efektywne wykorzystanie środków publicznych na naukę i umiejętność koordynacji pracy zespołu badawczego.

Podsumowując, w mojej opinii przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe, będące podstawą wniosku, spełnia wymagania zawarte w art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, tj. stanowi znaczny wkład autora w rozwój określonej dyscypliny naukowej.

### **Ocena pozostałego dorobku naukowego**

Pozostały dorobek naukowy habilitanta jest dość spójny i dotyczy w głównej mierze zjawiska lekooporności, badanej z wykorzystaniem drożdżaków – zarówno modelowych jak i patogennych (*S. cerevisiae*, *C. albicans* i *C. glabrata*). Dr Marcin Kończkowski podczas stażu w Belgii brał udział w dość pionierskich badaniach dotyczących białek ABC, izolując i charakteryzując białko Pdr5p z frakcji błon cytoplazmatycznych, opracowując metody pomiaru aktywności transportowej tego białka. W dalszej pracy habilitant przeprowadził analizę profilu substratowego dla głównych transporterów drożdżowych. Wyniki tych badań zostały opublikowane we wiodących czasopismach naukowych o wysokim współczynniku oddziaływania i wydają się być niezwykle cenne dla badaczy opracowujących nowe strategie terapeutyczne w obliczu narastającej lekooporności. W kolejnych pracach badano aktywność przeciwgrzybiczą wybranych związków, analizowano mechanizmy regulujące aktywność transporterów wielolekowych, a także podejmowano próby zgłębienia innych (nie związanych z transporterami ABC) mechanizmów oporności na substancje grzybobójcze.

Wg załączonej do wniosku analizy bibliometrycznej, poza cyklem prac wskazanym jako osiągnięcie naukowe, dr Kołaczkowski jest współautorem 9 prac oryginalnych i 2 poglądowych w czasopiśmie z bazy JCR, o łącznym wskaźniku IF=39,034 (łącznie 3 prace z pierwszym autorstwem) oraz jednej pracy poglądowej w czasopiśmie spoza bazy JCR. Fakt, że wyniki wszystkich dotychczasowych badań habilitanta zostały opublikowane w czasopiśmie z bazy JCR wskazuje na jakość i wagę badań, w które był zaangażowany, nie „rozminając na drobne” swojego potencjału. Habilitant jest ponadto współautorem skryptu dla studentów medycyny oraz dwóch pełnotekstowych referatów, opublikowanych w materiałach zjazdowych. Łączna punktacja MNiSW w/w prac wynosi 243. Całkowita liczba cytowań wszystkich prac habilitanta (włączając prace stanowiące osiągnięcie naukowe) wg bazy Web of Science wynosi 951 (896 bez autocytowań, na dzień 05.04.2019), a indeks Hirscha wg tej samej bazy – 12. Liczba cytowań poszczególnych prac jest wysoka, co wskazuje na ich jakość oraz przydatność dla innych badaczy.

Spośród pozostałych osiągnięć, wskazanych jako kryteria oceny w rozporządzeniu MNiSW, na szczególną uwagę zasługuje fakt, że habilitant był kierownikiem grantu przyznanego w ramach konkursu MNiSW (2005-2008 - w ramach którego powstała, między innymi, jedna z prac będących podstawą wniosku) oraz kieruje obecnie dużym projektem finansowanym przez NCN. Umiejętność pozyskiwania środków na badania jest niewątpliwie ważna, szczególnie w przypadku samodzielnych pracowników naukowych. Dr Kołaczkowski brał ponadto udział w realizacji kilku innych projektów badawczych, finansowanych ze źródeł krajowych oraz w jednym projekcie unijnym.

Ponadto habilitant wygłosił 6 referatów na konferencjach międzynarodowych i krajowych. W autoreferacie nie wskazuje na współautorstwo patentów czy też wynalazków. Na marginesie można by zaznaczyć, że biorąc pod uwagę daty publikacji poszczególnych prac z ogółu dorobku dr Marcina Kołaczkowskiego, niniejszy wniosek mógł być złożony i zapewne z powodzeniem procedowany co najmniej kilka lat wcześniej.

### **Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej**

Dr Marcin Kołaczkowski prowadził zajęcia z zakresu biofizyki dla studentów kierunków medycznych, zarówno w języku polskim jak i angielskim, jest także współautorem skryptu do ćwiczeń z przedmiotu biofizyka. Prowadził także wykłady na temat oporności wielolekowej patogennych mikroorganizmów.

Habilitant uczestniczył w wielu konferencjach naukowych, jest autorem około 20 doniesień zjazdowych, wygłosił szereg specjalistycznych referatów na konferencjach międzynarodowych i krajowych. Swoją wiedzę dzielił się także z szerszą publicznością, aktywnie uczestnicząc w kilku edycjach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki, ważnej imprezy popularyzującej zagadnienia naukowe. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, a do niedawna należał także do Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.

Realizacja badań naukowych we współpracy międzynarodowej jest niewątpliwie jednym z największych atutów dorobku naukowego dr Marcina Kończakowskiego. Już jako student odbył staż na Wolnym Uniwersytecie Brukselskim w Belgii. Przez sześć lat pracował naukowo w Laboratorium Biochemii Fizjologicznej Université Catholique de Louvain w Belgii. Efektem prowadzonych tam badań był nie tylko doktorat (którego ko-promotorem był prof. Andre Goffeau z tamtejszego ośrodka), ale szereg prac opublikowanych w czasopiśmie o bardzo wysokim współczynniku oddziaływania (np. Journal of Biological Chemistry –  $IF > 7$ ), w tym prace z pierwszym autorstwem habilitanta. Staż podoktorski na Uniwersytecie Iowa również zaowocował wartościową, wielokrotnie cytowaną publikacją naukową. Niemal wszystkie publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego wskazanego we wniosku (poza jedną) powstały w rezultacie współpracy międzynarodowej. Fenotiazyny, wykorzystane w dwóch pracach, zostały uzyskane dzięki współpracy z prof. Naboru Motohashi z Japonii, ekstrakty i surowce roślinne badane w kolejnych pracach pochodziły od naukowców ze Uniwersytetu Stanowego w Colorado, Uniwersytetu w Lizbonie czy Central Washington University. Co ważne, udział dr Kończakowskiego w tych badaniach był kluczowy i wiodący, ponieważ obejmował wykorzystanie opracowanego wcześniej, innowacyjnego modelu oporności wielolekowej. Zatem to badacze ze świata przesyłali habilitantowi materiał do przeprowadzenia badań z wykorzystaniem unikatowego narzędzia, a nie odwrotnie.

Ponadto, dr Kończakowski pełnił rolę recenzenta projektów badawczych NCN oraz recenzenta prac publikowanych w licznych czasopiśmie recenzowanych o uznanej renomie. Należy stwierdzić, że w zakresie działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej i współpracy międzynarodowej, dr Kończakowski wykazuje dużą aktywność i spełnia wymogi stawiane kandydatom na stopień dr habilitowanego.

## Podsumowanie oceny

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe (cykl publikacji), będące podstawą wniosku, spełnia wymagania zawarte w art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Pozostały (poza osiągnięciem) dorobek naukowy dr Marcina Kończakowskiego nie jest być może imponujący ilościowo, ale zawiera prace o dużej wartości naukowej, wielokrotnie cytowane i imponujące liczbą przeprowadzonych eksperymentów. Habilitant wykazał ponadto wyjątkową aktywność w zakresie współpracy międzynarodowej oraz odpowiednio udokumentował działalność dydaktyczną i popularyzatorską. W związku z powyższym, po przeprowadzeniu analizy osiągnięć naukowo-badawczych oraz dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego kandydata, przedstawiam Komisji Habilitacyjnej wnioski o pozytywne zaopiniowanie wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Marcinowi Kończakowskiemu.

Szczecin, 29.11.2019

