



Politechnika Łódzka
Instytut Chemii Organicznej

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCIPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	02-12-2019
L. dz. RN-BM/	129/2019



Prof. dr hab. inż. Tomasz Janecki
Żeromskiego 116, 90-924 Łódź
Tel. +48 6313220
e-mail: tomasz.janecki@p.lodz.pl

Łódź, 26.11.2019

OCENA

**osiągnięcia naukowego zatytułowanego
„Oporność wielolekowa i transportery wielolekowe ABC – wyzwanie
współczesnej chemioterapii”**

**oraz działalności naukowej i całokształtu dorobku naukowego dr Marcina
Kołaczkowskiego w związku z toczącym się postępowaniem
habilitacyjnym**

Oceny dokonałem zgodnie z rozporządzeniem MNiSW z dnia 1 września 2011 r. na podstawie decyzji Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów z dnia 9 września 2019 r. powołującej mnie na recenzenta.

1. Informacje podstawowe

Dr Marcin Kołaczkowski uzyskał stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego w 1997 r. na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Charakterystyka Pdr5p, głównego transportera związanego z wieloraką opornością drożdży na substancje toksyczne”. Od 1999 r. do

90-924 Łódź, ul. Żeromskiego 116
tel. (+48 42) 631 31 40, fax: (+48 42) 631 32 25
www.p.lodz.pl

VIP, 1
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCIPLINY NAUKI MEDYCZNE
przewodniczący
prof. dr hab. Grzegorz Mazur



chwili obecnej Habilitant pracuje jako adiunkt w Katedrze i Zakładzie Biofizyki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

2. Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego jednotematyczny cykl publikacji

Zainteresowania dr Kołaczkowskiego są związane, ogólnie mówiąc, z tematyką oporności wielolekowej, a jednym z mechanizmów tej oporności jest aktywny transport leków na zewnątrz komórki przez białka błonowe z rodziny ABC, które wykorzystują do niego energię pochodzącą z hydrolizy ATP. Substratami dla tych białek mogą być zarówno związki przeciwbakteryjne, przeciwnowotworowe jak i przeciwgrzybowe. Właśnie te ostatnie pozostają w kręgu zainteresowań Habilitanta. Cykl składa się z siedmiu artykułów opublikowanych w latach 2003-2013 w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Współczynnik wpływu prac zaliczonych do cyklu habilitacyjnego wynosi 21,74 (180 punktów MNiSW), liczba cytowani 132. Są to współautorskie prace opublikowane w: *Int. J. Antimicrob. Agents, Eucaryot Cell, Antimicrob. Agents Chemother., Microb. Drug Resist., Mycoses, J. Nat. Prod., Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* Tylko w jednej z tych prac Habilitant nie jest pierwszym autorem. W czterech pracach jest autorem korespondencyjnym. Liczba współautorów w wymienionych pracach waha się od 2 do 7, a wiodący udział dr Kołaczkowskiego w powstaniu tych prac nie budzi wątpliwości, co potwierdzają oświadczenia współautorów opisujące charakter ich wkładu w poszczególne publikacje. Habilitant również starannie opisał swój wkład we wszystkie prace. Z opisów tych wynika jednoznacznie, że odgrywał on dominującą rolę na etapie planowania badań, jak również na etapie ich wykonywania i opracowywania wyników.

Zainteresowanie dr Kołaczkowskiego tematyką oporności wielolekowej miało swój początek w czasie Jego kilkuletniego pobytu w Laboratorium Biochemii Fizjologicznej w Louvain-la Neuve kierowanym przez prof. Goffeau. Problem oporności wielolekowej jest niezwykle ważny z klinicznego punktu widzenia, ponieważ dotyczy zmniejszenia skuteczności działania antybiotyków i leków przeciwnowotworowych. Po raz pierwszy został zaobserwowany w jedno-

komórkowym organizmie eukariotycznym, *Saccharomyces cerevisiae* czyli drożdżach piekarskich. Drożdże te były i są atrakcyjnym modelem do badań, ponieważ ich genom został dawno temu zsekwencjonowany i można nim łatwo manipulować.

Habilitant w szczególności skupił swoją uwagę na analizie bioinformatycznej genów, związanych z opornością wielolekową. W pracy **Differential regulation of ceramide synthase components *LAC1* and *LAG1* in *Saccharomyces cerevisiae*** autorzy wykazali, że syntaza sfingolipidów w drożdżach piekarskich jest transkrypcyjnie regulowana przez główny aktywator oporności wielolekowej drożdży, Pdr1p.

W pracy **Phenothiazines as potent modulators of yeast multidrug resistance**, która patrząc chronologicznie była pierwszą pracą cyklu, choć została opisana jako druga, zbadano wpływ dużej serii fenotiazyn na oporność wielolekową szczepów drożdży o różnej ekspresji 3 typów transporterów obecnych w drożdżach (Pdr5p, Snq2p i Yor1p). Niektóre z nich okazały się substratami dla Pdr5p i działały synergistycznie z przeciwgrzybiczym lekiem ketokonazolem.

Dwa kolejne artykuły zostały opublikowane w 2009 r., czyli po 5-letniej przerwie, w czasie której Habilitant był współautorem tylko jednej pracy.

Dwa najczęściej występujące ludzkie patogeny grzybicze to *Candida albicans* i *Candida glabrata*. Właśnie nimi zajmował się Habilitant w kolejnych dwóch pracach opublikowanych w 2009 r.

Artykuł zatytułowany **New high throughput screening assay to reveal similarities and differences in inhibitory sensitivities of multidrug ATP-binding cassette transporters** dotyczy badań na grzybie z rodzaju drożdżaków, *Candida albicans*. Cdr1p jest głównym transporterem ABC, powodującym oporność tego patologicznego grzyba na wiele leków przeciwgrzybiczych. W pracy opisano nową, fluorescencyjną metodę pomiaru transportu leków z komórki i porównano profile farmakologiczne różnych transporterów. Zidentyfikowano nowy związek, M961 jako inhibitor Cdr1p, który nasilał przeciwgrzybicze działanie ketokonazolu na *Candida albicans*.

W artykule **Modulation of the antifungal activity of new medicinal plant extracts active on *Candida glabrata* by the major transporters and**

regulators of the pleiotropic drug-resistance network in *Saccharomyces cerevisiae* opublikowanym w ramach współpracy z prof. Stermitzem z USA zidentyfikowano spośród różnych ekstraktów roślinnych kilka, które hamowały wzrost grzybów. Co ciekawe, wykazano, że ekstrakty z rośliny *Artemisia annua* oraz jej najważniejszy składnik artemisinin, używany jako skuteczny lek przeciwmalaryczny modulują aktywność transporterów grzybów. Ważną obserwacją był też fakt, że często surowe ekstrakty roślinne posiadają silniejsze działanie biologiczne niż oczyszczone frakcje, co Autorzy przypisują synergistycznemu działaniu kilku składników.

Silny efekt przeciwgrzybiczy ekstraktu z *Dalea formosa* opisany w poprzedniej pracy zachęcił dr Kołaczekowskiego do określenia składu tego ekstraktu (we współpracy z prof. Belofsky'm z USA). Wyodrębniono sześć nowych izoflawonoidów, których struktury i konfigurację absolutną, a także aktywność przeciwgrzybiczą opisano w artykule **Fungal ABC-transporter associated activity of isoflavonoids from the root extract of *Dalea formosa***.

Kontynuacją tematyki ekstraktów roślinnych była praca **Substrates and modulators of the multidrug transporter Cdr1p of *Candida albicans* in antifungal extracts of medicinal plants** dotycząca również badania przeciwgrzybiczych właściwości ekstraktów z roślin, tym razem pochodzących z obszarów tropikalnych i była wykonana we współpracy z zespołem z Portugalii.

W ostatniej pracy cyklu **A conserved interdomain communication pathway of pseudosymmetrically distributed residues affects substrate specificity of the fungal multidrug transporter Cdr1** dr Kołaczekowski korzystając z biblioteki mutantów transporterów ABC oraz analizy funkcjonalnej zidentyfikował nowe reszty aminokwasowe ważne dla komunikacji pomiędzy domenami wiążącymi ATP i domenami transbłonowymi w Cdr1, co jest bardzo ważne dla zrozumienia mechanizmu działania i specyficzności substratowej transporterów.

Podsumowując mogę stwierdzić, że przedstawiony do oceny cykl prac spełnia kryterium jednolitej tematyki. W badaniach wykorzystano zaawansowane metody badawcze (metody immunologiczne, konstrukcję plazmidów, footprinting, metody

fluorescencyjne, mutagenezę). Opisane wyniki są interesujące i dobrze udokumentowane i wnoszą istotne informacje na temat działania transporterów ABC u grzybów. Zidentyfikowano też szereg inhibitorów pochodzenia roślinnego potęgujących przeciwrzybowy efekt znanego leku, ketokonazolu.

Uważam, że materiał ten spełnia kryteria habilitacyjne od strony merytorycznej, a udział Habilitanta jest odpowiednio udokumentowany.

Moje zdziwienie budzi natomiast fakt, że dr Kołaczkowski zdecydował się na przygotowanie rozprawy habilitacyjnej w 2019 r., podczas gdy ostatnia praca cyklu ukazała się w 2013 r.

3. Całościowa ocena działalności naukowej oraz dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego

Dorobek naukowy Habilitanta jest raczej skromny, jeśli wziąć pod uwagę ilość prac. Obejmuje on 19 artykułów (w tym 7 prac stanowiących osiągnięcie naukowe), opublikowanych w latach 1994-2016, z czego trzy opublikowane były przed doktoratem. Dziwić może zupełny brak aktywności publikacyjnej w pewnych latach, zwłaszcza po roku 2013, kiedy to do chwili obecnej ukazała się tylko 1 praca przeglądowa.

Łączny współczynnik wpływu (IF) wszystkich prac, w których dr Kołaczkowski jest współautorem jest dość wysoki i wynosi 60,774, Duża liczba cytowań wszystkich prac wynosząca 856, przekłada się na wysoki indeks Hirscha 12. Uzupełnieniem dorobku publikacyjnego jest udział Habilitanta w 21 konferencjach naukowych, na których wygłosił 6 referatów.

Niejasne jest natomiast, dlaczego po roku 2013 dr Kołaczkowski nie opublikował żadnej pracy doświadczalnej, ani nie brał udziału w żadnej konferencji naukowej.

Na podkreślenie zasługuje duża aktywność Habilitanta w zdobywaniu funduszy na badania. Dr Kołaczkowski był kierownikiem grantu MNiSW/KBN (2005-2008) oraz grantu NCN (2014-2019), a także wykonawcą w projekcie Unii Europejskiej COST, w dwóch grantach krajowych oraz w trzech projektach w ramach badań własnych UM we Wrocławiu. Niestety udział w tych kilku projektach nie przełożył się na większą ilość prac.

Dr Kołaczkowski odbył szereg staży zagranicznych, 2- i 6-miesięczny jeszcze jako student, a następnie długoterminowy 6-letni w Laboratorium Biochemii Fizjologicznej w Belgii i 2-letni, jako post-doc w Departamencie Fizjologii i Biofizyki w Iowa City, USA.

Dr Kołaczkowski jest pracownikiem naukowo-dydaktycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, co oczywiście jest związane z prowadzeniem licznych zajęć ze studentami, zarówno ćwiczeń jak i wykładów. Był on też współautorem skryptu dla studentów "Ćwiczenia laboratoryjne z biofizyki". W ramach popularyzacji nauki miał kilka wykładów na Festiwalu Nauki (w 2004, 2005, 2012 i 2014 r). Był też opiekunem naukowym części pracy doktorskiej Kamili Środy-Pomianek (stwierdzenie "części pracy" nie jest dla mnie jasne - sugeruje, że dr Kołaczkowski nie był w rzeczywistości promotorem pomocniczym, a tylko pomagał w realizacji fragmentu pracy).

Wniosek końcowy

Dorobek naukowy dr Kołaczkowskiego jest stosunkowo niewielki pod względem liczby publikacji, ale znaczący biorąc pod uwagę jakość czasopism. Umiejętność zdobywania grantów, współpracy naukowe, zasługują na uznanie, a otrzymane wyniki stanowią poważny i oryginalny wkład w badania z zakresu biologii medycznej i świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu Habilitanta do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej.

Na podstawie analizy cyklu prac przedstawionego jako osiągnięcie naukowe w postępowaniu habilitacyjnym i analizy całego dorobku naukowego stwierdzam, że dr Marcin Kołaczkowski spełnia wszystkie warunki określone w Ustawie o Stopniach i Tytule Naukowym i wnioskuję o nadanie mu stopnia doktora habilitowanego zgodnie z trybem przewidzianym w art. 18a ustawy z dnia 14 marca 2003 r. i późniejszymi zmianami (Dziennik Ustaw z 2017 r, poz. 1789) o zmianie ustawy „*Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz o zmianie innych ustaw*”.

