



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej

Prof. dr hab. Andrzej Gamian
ul. Chałubińskiego 10, 50-368 Wrocław
tel. (071)7841370, 7840084, fax: 7840085
e-mail: andrzej.gamian@umed.wroc.pl; <http://www.am.wroc.pl>

Wrocław, 26.02.2021 r.

Ocena osiągnięcia naukowego i całego dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego Dr
n. med. Angeliki Muchowicz ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Habilitantka ukończyła studia biochemiczne na Międzywydziałowym Studium Biotechnologii SGGW, uzyskując w 2008 r. dyplom magistra inżyniera w zakresie biotechnologii, na podstawie pracy magisterskiej wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. med. Jakuba Gołąba. Studia doktoranckie w programie TEAM Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej rozpoczęła w 2009 roku w Zakładzie Immunologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i w 2012 r. otrzymała stopień doktora nauk medycznych. Pracę doktorską pt. „Próby zastosowania inhibitorów tioredoksyny w leczeniu nowotworów” wykonała pod kierunkiem Prof. dr hab. Jakuba Gołąba. W tym samym roku została zatrudniona na stanowisku asystenta naukowego w Zakładzie Immunologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie pracuje do tej pory, na Wydziale Lekarskim. Głównym przedmiotem zainteresowań naukowych Habilitantki były zagadnienia mechanizmów reakcji fotodynamicznej oraz ocena selektywności nowych inhibitorów tioredoksyny jako enzymu antyoksydacyjnego. Habilitantka odbyła w 2009 roku trzymiesięczny staż naukowy w Harvard Medical School, dwumiesięczny staż w Swiss Federal Institute of Technology w Lozannie oraz w 2018 r. trzytygodniowy staż w International Centre for Genetic Engineering Biotechnology w Trieście.

Ocena dorobku naukowego

Całokształt dorobku naukowego Habilitantki (poza osiągnięciem naukowym), począwszy od 2008 roku, obejmuje 24 oryginalnych prac doświadczalnych, opublikowanych w czasopiśmie o wysokim współczynniku cytowań, znajdujących się w bazie Journal Citation Reports, takich jak FASEB J (IF=6,515), BMC Cancer (IF=3,087), Int. J. Oncol. (IF=2,234), Cancer Res. (IF=7,543; 9,284), PloS One (IF=4,411), J. Med. Chem. (IF=5,614), J. Biol. Chem. (IF=4,651), Front Biosci. (IF=3,52), Molecules (IF=2,386), Angiogenesis (IF=4,876). Dr A. Muchowicz, jest także autorką 6 prac przeglądowych, 2 rozdziałów książkowych oraz 3

komunikatów zjazdowych przedstawionych w formie plakatów na konferencjach za granicą. Pod kierunkiem Prof. dr hab. Jakuba Gołęba tematyka badań Habilitantki dotyczyła głównie roli enzymów antyoksydacyjnych w proliferacji i przeżyciu komórek nowotworowych. Enzymy antyoksydacyjne neutralizują szkodliwy nadmiar reaktywnych form tlenu (ROS), które wywołują stres oksydacyjny prowadzący do śmierci komórki poprzez uszkodzenia białek i DNA i towarzyszący transformacji nowotworowej. Komórki nowotworowe wytwarzają dla przeciwwagi enzymy antyoksydacyjne, łącznie z tioredoksyną i reduktazą tioredoksyny, stąd poszukiwanie ich inhibitorów. W dwóch publikacjach (Int. J. Oncol. 2008, 32, 249-55; BMC Cancer 2008, 8, 197) będących wynikiem pracy doktorskiej, zidentyfikowano cele terapeutyczne dla dwóch inhibitorów tioredoksyny i opisano wpływ indukowanego przez PDT stresu oksydacyjnego na mikrośrodowisko guza i hamowaniem immunosupresji indukowanej przez PDT. Tematyka działania adenantyny była kontynuowana w następnych latach podczas realizacji pracy doktorskiej (Eur. J. Cancer 2014, 50, 1370-81; Biochem. Pharmacol. 2014, 89, 210-6). Habilitantka uczestniczyła w trzech kolejnych publikacjach (Cancer Res. 2009, 69, 4235-43; FASEB J 2010, 24, 3160-70; PloS One 2010, 5, e15194). Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora poszukiwanie nowych inhibitorów tioredoksyny i ich wykorzystanie w terapii łączonej z PDT było przedmiotem publikacji (J. Med. Chem. 2012, 55, 55-67) i patentu (306259). Opublikowano także wyniki badań nad regulacją genu kodującego CD20 w modelach białaczkowych (JBC, 2012, 287, 31983-93). Dwie prace przeglądowe dotyczyły prób poprawienia terapii PDT nowotworów i zastosowania kwasu aminolewulinowego w PDT (Front. Biosci. 2011, 16, 208-24; Molecules, 2011, 16, 4140-64), dwie następne poświęcono układowi tioredoksynowemu (Post. Biol. Kom. 2008, 35, 391-402) i zastosowaniom immunologii w diagnostyce (rozdział w: Immunologia 2012). Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora Habilitantka opublikowała 17 prac oryginalnych (poza wyodrębnionymi jako osiągnięcie). Wykazano, że PDT mysiej mastocytoza indukuje swoistą odpowiedź wobec antygeny P1A (Cancer Res. 2013, 73, 6462-70). Podczas stażu w Lozannie w Laboratorium prof. Melody Swartz podczas badań uszkodzeń naczyń limfatycznych w wyniku działania PDT wykazano, że PDT nadaje się do selektywnego zamknięcia naczyń limfatycznych skóry myszy. W niskich dawkach PDT hamowała przepływ limfy przez naczynia limfatyczne, bez uszkodzeń naczyń krwionośnych (Angiogenesis, 2014, 17, 347-57). Określono synergistyczny efekt nowych tiosemikarbazydowych chelatorów żelaza w odniesieniu do PDT (ACS Med. Chem. Lett. 2014, 5, 336-339; PloS One, 2014, 9, e110291). Kontynuacja badań nad adenantyną jako inhibitorem tiolo-zależnych enzymów antyoksydacyjnych pozwoliły wykazać jej negatywny wpływ na funkcje ludzkich limfocytów cytotoksycznych (Immunology, 2015, 93, 418-27). Badania kombinacji inhibitorów układów redoks adenantyny, auranofiny i SK053 wykazały, że najlepsze działanie wykazuje adenantyna w modelach białaczek (Curr. Opin. Hematol. 2017, 24, 393-401; Haematologica 2018, 103, 1843-52; Br. J. Cancer, 2018, 119, 873-84; Redox Biol. 2019, 21, 101062; Mol. Oncol. 2019, 13, 1180-95). Badania inhibitorów deacetylazy histonów w

kombinacji z rituksymabem oceniano jej skuteczność w modelach *in vivo* (Blood, 2017, 7, 1628-38). Z kolei w ramach badań nad mechanizmami immunosupresyjnymi towarzyszącymi PDT zidentyfikowano dioksygenazę 2,3-indolaminy (IDO) jako mechanizm immunosupresyjny indukowany przez PDT. IDO katalizuje degradację tryptofanu niezbędnego do funkcjonowania limfocytów T. W ramach współprac określono z Zakładem Genetyki Medycznej WUM znaczenie mutacji genu NARP (Sci. Rep. 2017, 7, 3362), oraz prowadzone są analizy funkcji neutrofilów z Zakładem Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego (Cell. Mol. Life Sci. 2019, 1-17). Spośród prac powstałych w ramach stażu w Lozannie opublikowano także publikację dotyczącą fotodiagnostyki przy pomocy reakcji PDT (Photodiagn. Photodyn. Ther. 2016, 14, 57-65). Współpraca z zespołem prof. Patricii Agostinis z Leuven Center for Cancer Biology dotyczyła przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej po szczepionce obejmującej PDT i melfalan (Cancer Res. 2015, 75, 1603-14). Podkreślenia wymaga to, że Habilitantka wykazała się samodzielnością myślenia i w pełni opanowała warsztat biochemiczny, genomiczny, immunochemiczny, bioobrazowania, biologii komórki. Wysoko oceniam dorobek Habilitantki pod względem wartości naukowej. Należy podkreślić bardzo dużą aktywność naukową poczynając od okresu studiów uniwersyteckich, od ich ukończenia w 2008 roku (11 publikacji w latach 2008-2012), by przez 7 kolejnych lat opublikować 26 ważnych prac (średnio 3,7 rocznie). Impact Factor (według JCR, zgodnie z rokiem publikacji), dorobku niewchodzącego w skład osiągnięcia wynosi 144,985 (przed doktoratem 39,961), natomiast IF cyklu prac będących przedmiotem osiągnięcia naukowego wynosi 22,191, a łącznie z pracą poglądową 29,91. Sumaryczny IF wszystkich opublikowanych prac Habilitantki wynosi 174,895 (1562 pkt MNiSW). Liczba cytowań jej publikacji wynosi 666 (bez autocytowań) z czerwca 2020 r. według Scopus, a indeks Hirscha wynosi 16. Dr A. Muchowicz była kierownikiem czterech projektów, mianowicie dwóch z NCN (SONATA z 2015 r. i OPUS z 2019 r. w trakcie realizacji) oraz wcześniejszych z MNiSW z 2011 r. i 2010 r. Była także wykonawcą w trzech zakończonych grantach, FNP (Team), Polish-Swiss Research Programme oraz NCN (OPUS). Dr A. Muchowicz otrzymała szereg prestiżowych wyróżnień, mianowicie stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla studentów w 2007 r. i powtórnie, dla wybitnych młodych naukowców w 2015 r., stypendium ICRETT – International Cancer Fellowship Union Against Cancer (Boston, USA) w 2009 r., stypendium START Fundacji na rzecz Nauki Polskiej w 2010 r., nagrodę L'Oreal-UNESCO Awards for Woman in Science w 2012 r., czy nagrodę specjalną Rektora WUM dla wyróżniających się młodych naukowców (poniżej 35 roku życia). Plany naukowe Habilitantki obejmują kontynuację prowadzonych z sukcesem prac.

Podsumowując ocenę dorobku naukowego Dr Angeliki Muchowicz uważam, że jej prace z zakresu badań mechanizmów reakcji fotodynamicznej i inhibitorów tioredoksyny mają podstawowe znaczenie biologiczne, ważne dla medycyny i biotechnologii. Miarą wartości tych prac są między innymi tytuły czasopism w których zostały opublikowane. Analiza dorobku

naukowego Dr A. Muchowicz wskazuje na jej stały rozwój naukowy przez wzbogacanie warsztatu eksperymentalnego, doskonalenie nowoczesnych metod, samodzielne podejmowanie tematyki i realizacji zadań badawczych, zarówno w aspekcie koncepcyjnym jak i wykonawczym.

Ocena osiągnięcia naukowego przedstawionego w postaci jednotematycznego cyklu publikacji

Osiągnięcie naukowe Dr Angeliki Muchowicz stanowi jednotematyczny zbiór czterech prac oryginalnych i jednej przeglądowej, opatrzonej syntetycznym omówieniem i dotyczy badań enzymów antyoksydacyjnych wraz z tioredoksyną, które neutralizują reaktywne formy tlenu (ROS), utrzymują równowagę redoks, a w nowotworach biorą udział w powstawaniu przerzutów nowotworowych. Ważnym podejściem do terapii nowotworowej jest zahamowanie aktywności układu tioredoksyny, uwrażliwienie komórek opornych na leki mające indukować stres oksydacyjny. Dlatego badania koncentrują się na inhibitorach tioredoksyny. Temu celowi służy też reakcja fotodynamiczna PDT dla masywnej indukcji stresu oksydacyjnego, jak też terapia skojarzona PDT z inhibitorami układu tioredoksyny. W cyklu prac zatytułowanym „Przeciwnowotworowe działanie terapii zaburzających równowagę redoks komórki nowotworowej oraz ich wpływ na mikrośrodowisko nowotworu w przedklinicznych badaniach *in vitro* i *in vivo*” określono nowe cele terapeutyczne dla inhibitorów tioredoksyny, adenantyny i SK053 oraz ich mechanizm działania. Określono także jak wpływa PDT, indukująca stres oksydacyjny i aktywująca immunosupresję, na mikrośrodowisko guza oraz podjęto próbę zahamowania tej immunosupresji. Wyniki te mogą także znaleźć zastosowanie praktyczne w terapii nowotworowej. Osiągnięcie naukowe stanowi dojrzałą i zwartą koncepcję kompleksowych badań. W trzech pracach Dr A. Muchowicz jest pierwszą autorką, a w czwartej ostatnią, ale autorką do korespondencji. Wszystkie te prace opublikowano w latach 2014-2020. W pracy poglądowej jest też ostatnią autorką, do korespondencji.

W pierwszej pracy (Biochem. Pharmacol. 2014, 89, 210-2015) wykazano, że adenantyna jest efektywnym i nieodwracalnym inhibitorem tioredoksyny, również wewnątrz komórki, dwóch linii komórkowych. Jej dawkozależne działanie cytostatyczne i cytotoksyczne jest silniejsze niż SK053. Adenantyna hamuje aktywność enzymów, których miejsce aktywne jest zbudowane z cystein tworzących mostki dwusiarczkowe. Badania wykazały, że adenantyna jest raczej nie inhibitorem enzymatycznym, lecz działa jako selektywny mechanizm hamujący enzymy zawierające dostępne nukleofilowe reszty cysteinowe. Wskazuje to na potencjał terapeutyczny w kierunku chorób w których takie enzymy uczestniczą w patogenezie. W drugiej pracy (Biochem. Pharmacol. 2015, 93, 418-427) wykazała, że SK053 indukuje apoptozę której towarzyszy stres retikulum endoplazmatycznego. Działanie SK053 wywołuje apoptozę komórek nowotworowych zależną od kaspazy 12, związaną ze wzrostem ekspresji genu kodującego czynnik transkrypcyjny CHOP. Trzecia publikacja cyklu (Eur. J. Cancer, 2017, 83, 19-27) dotyczy terapii fotodynamicznej PDT, gdzie wykazano, że funkcjonalne naczynia limfatyczne są niezbędne do działania PDT. Zahamowanie powstawania naczyń limfatycznych guza albo ich

zniszczenie nie pozwala na rozwinięcie się skutecznej, przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej po PDT. Czwarta praca cyklu (Cancer Immunol. Immunother. 2020, 69, 1101-1112) dotyczy zidentyfikowanego enzymu jako mechanizmu immunosupresyjnego indukowanego przez PDT, mianowicie dioksygenazy 2,3-indoloaminy (IDO). Enzym ten katalizuje reakcję degradacji tryptofanu ważnego dla aktywacji limfocytów T, do kinurenin, które hamują działanie limfocytów T i polaryzację CD4+ w komórki regulatorowe. W pracy wykazano wzrost ekspresji genu i aktywności enzymatycznej IDO. Głównym źródłem IDO okazały się granulocyty i makrofagi napływające do guza po PDT. Okazało się też, że immunosupresyjnie działająca IDO chroni organizm przed nadmierną aktywacją układu odpornościowego po PDT. Zahamowanie IDO epakadostatem, inhibitorem stosowanym w klinice, spowodowało silną reakcję toksyczną w modelu raka, możliwą do zniesienia po użyciu przeciwciał anti-IL-6. Wagę tych wyników podkreślają nieudane próby kliniczne z inhibitorami IDO, co oznacza potrzebę zachowania równowagi pomiędzy aktywacją i hamowaniem odpowiedzi immunologicznej po PDT. Praca pogładowa (Oncoimmunol. 2016, 5, e1182278), którą można uznać za część osiągnięcia naukowego czyli pracy habilitacyjnej, opisuje udział naczyń limfatycznych kluczowych dla rozwoju odpowiedzi immunologicznej, a szczególnie limfangiogenezy we wzroście guza i sprzyjaniu tworzenia przerzutów nowotworowych. Autorka zastosowała w swoich badaniach szeroki wachlarz nowoczesnych metod biochemicznych, immunochemicznych, biologii molekularnej, metod komórkowych, mikroskopii elektronowej, z użyciem zwierząt, analizy statystycznej. Umożliwiło to kompleksowe podejście do badań reakcji fotodynamicznej. Prace te są nowatorskie, wyznaczają nowe cele terapeutyczne w leczeniu chorób nowotworowych. Za najważniejsze dokonania w pracach objętych osiągnięciem naukowym należy uznać przybliżenie mechanizmów działania inhibitorów układu tioredoksyn w terapii przeciwnowotworowej oraz rolę IDO w reakcji fotodynamicznej i ukierunkowanie uwzględniających IDO badań na skuteczną i bezpieczną terapię PDT.

Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego

Habilitantka ma także osiągnięcia w działalności dydaktycznej, którą realizowała głównie na Wydziale Lekarskim Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Prowadzi od 2009 roku zajęcia z immunologii dla kierunku lekarskiego i English Division, a poprzednio także dla Wydziału Farmaceutycznego. Była promotorem pracy inżynierskiej i trzech prac magisterskich. Habilitantka od studiów doktoranckich sprawuje opiekę nad studentami Koła Naukowego w Zakładzie Immunologii. Jest współautorką rozdziału w podręczniku „Immunologia” wydawanym w latach 2012 i 2017. Jest recenzentem w programie Diamentowy Grant MNiSW. Recenzowała manuskrypty publikacji do renomowanych pism naukowych, takich jak Int. J. Cancer, Pharmaceutics, Exp. Hematology, stale recenzuje prace w Int. J. Immunol.

Ocena w zakresie współpracy międzynarodowej

Poza wspomnianymi wcześniej stażami naukowymi, trzymiesięcznym w 2009 roku w Harvard Medical School, dwumiesięcznym w Swiss Federal Institute of Technology w Lozannie

oraz w 2018 r. trzytygodniowym w International Centre for Genetic Engineering Biotechnology w Trieście, habilitantka współpracowała z grupą prof. Patricii Agostinis z Leuven Center for Cancer Biology czego owocem była praca w Cancer Res. (2015, 75, 1603-1614) na temat terapii PDT skojarzonej z melfalanem. Wyniki pierwszej z wyżej wymienionych współprac opublikowano w czterech pracach, wyniki drugiego stażu zawarto w czterech kolejnych pracach, przy czym ta współpraca jest kontynuowana. Współpraca z Centrum w Trieście odbywała się w ramach kierowanego przez Habilitantkę grantu OPUS, co świadczy o inicjatywie w podejmowaniu takich wspólnych badań.


Podsumowanie

W podsumowaniu oceny prac Dr A. Muchowicz, będących podstawą recenzowanego osiągnięcia naukowego należy podkreślić, że otrzymane wyniki są podstawą do dalszych badań nad mechanizmami reakcji fotodynamicznej, neutralizacją skutków ubocznych, nad poszukiwaniem celów terapeutycznych, terapią skojarzoną. Za pionierskie uważam podejście z użyciem skojarzonego działania inhibitorów tioredoksyny i badań udziałuIDO w tych mechanizmach. Zauważalny jest rozwój naukowy Habilitantki, konsekwentnie w kierunku samodzielności poprzez doskonalenie własnego warsztatu badawczego, rozwoju współprac, wzbogacanie metod, redagowanie prac, co świadczy bardzo dobrze o Habilitantce i laboratorium w którym pracuje. Prace z udziałem Habilitantki charakteryzują się rzetelnością, dobrym warsztatem doświadczalnym, wysokim poziomem naukowym. Osiągnięcie naukowe stanowi zbiór ważnych prac z zakresu onkologii eksperymentalnej, genetyki, immunochemii i biologii.

Wniosek końcowy

Oceniając pracę pod względem formalnym pragnę postawić wniosek końcowy, że Dr A. Muchowicz pełni wiodącą rolę w wykonaniu opublikowanych prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Biorąc pod uwagę całokształt działalności naukowej Dr Angeliki Muchowicz, która prezentuje się jako dojrzały badacz o dużym zaangażowaniu w procesie naukowym, niewątpliwie kwalifikuje się do objęcia stanowiska samodzielnego pracownika nauki. Zarówno jej osiągnięcie naukowe jak i dorobek naukowy spełniają wymagania ustawowe według ustalonych kryteriów (zgodnie z ustawą z 18 marca 2011 r. 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 niektórych innych ustaw – Dz. U. z 2011 r., nr 84, poz. 455, z późn. zm., w brzmieniu obowiązującym od 1.10.2011 r., oraz ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. "Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym", Dz.U. poz. 1669). Na podstawie dokonanej oceny dorobku naukowego i osiągnięcia naukowego mam zaszczyt przedłożyć Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o nadanie Dr Angelice Muchowicz stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Prof. dr hab. Andrzej Gamian

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII LEKARSKIEJ

Prof. dr hab. Andrzej Gamian