

dr hab. Anna Herman-Antosiewicz, prof. UG  
Katedra Biologii Molekularnej  
Wydział Biologii  
Uniwersytet Gdański  
ul. W. Stwosza 59  
80-308 Gdańsk  
tel: 58 523 6034

Gdańsk, 12.11.2015

**Recenzja osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku  
pani dr Ewy Augustin w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia  
doktora habilitowanego nauk biologicznych w zakresie biologii**

Pani dr Ewa Augustin uzyskała dyplom magistra biologii w 1986 roku na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Gdańskiego i w tym samym roku rozpoczęła pracę w Katedrze Technologii Leków i Biochemii na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, gdzie pracuje do chwili obecnej. Początkowo była zatrudniona na etatach kolejno inżynieryjno-technicznym i naukowo-technicznym. W tym czasie pracowała nad doktoratem, który obroniła w 1998 roku na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego (temat: „Wpływ związków biologicznie czynnych na cykl życiowy oraz programowaną śmierć (apoptozę) komórek nowotworowych”, promotor: prof. dr hab. inż. Jerzy Konopa). Następnie pracowała przez rok jako asystent, przez 11 lat jako adiunkt, a od 2011- jako starszy wykładowca w Katedrze Technologii Leków i Biochemii. Przez ten czas kontynuowała badania dotyczące mechanizmów działania potencjalnych leków antynowotworowych, czego efektem są prace składające się na osiągnięcie naukowe na stopień doktora habilitowanego nauk biologicznych.

**Opinia o osiągnięciu naukowym pt: Efekty biologiczne i biochemiczne indukowane przez przeciwnowotworowe pochodne akrydyny w komórkach nowotworowych**

Na osiągnięcie naukowe składa się 6 prac eksperymentalnych i 1 monografia. Wszystkie te prace dotyczą różnych aspektów antynowotworowej aktywności pochodnych akrydyny. Pierwszą taką pochodną, która trafiła do klinik w latach 70-ych XX wieku, był lek Ledakrin (Nitracrine<sup>R</sup>) uzyskany w Katedrze Technologii Leków i Biotechnologii. Ze względu jednak na działania uboczne został wycofany, natomiast nie zaprzestano syntezy kolejnych pochodnych z nadzieją uzyskania związków skuteczniejszych, a zarazem bardziej selektywnych wobec komórek

nowotworowych. Do takich związków należą badane przez panią dr Augustin pochodne z grupy imidazoakrydonów (C-1311), triazoloakrydonów (C-1305) i 4-metylo-1-nitroakrydyn (C-1748). Na efektywność i użyteczność danego leku antynowotworowego w praktyce klinicznej wpływa wiele czynników, m.in. skuteczne i selektywne blokowanie proliferacji komórek nowotworowych oraz indukcja ich śmierci, ale także zestaw i poziom enzymów metabolizujących lek. Dlatego też badania zmierzające do poznania mechanizmu działania potencjalnego leku w kontekście zróżnicowania fenotypowego komórek, w tym m.in. - jego metabolizmu, celów molekularnych, odpowiedzi, jaką wywołuje na poziomie komórki, są kluczowe w fazie przedklinicznej badań. W tę tematykę wpisują się prace składające się na osiągnięcie naukowe pani dr Ewy Augustin.

Zostały one opublikowane w latach 1998-2015 w czasopismach z bazy Journal Citation Reports, m.in. w *Biochemical Pharmacology*, *Acta Pharmacologica Sinica*, *Cell Biology International*, a ich łączny IF wynosi 16,746 (185 punktów MNiSW). Wszystkie te publikacje są efektem pracy zespołowej, ale pani dr Augustin jest w większości z nich pierwszym (w 5 pracach) oraz korespondencyjnym autorem (w 6 pracach). Habilitantka szacuje swój udział w ich powstaniu na 20 - 75%, co jest poparte oświadczeniami współautorów i nie pozostawia wątpliwości, że pani dr Augustin miała w nich znaczny lub wręcz dominujący wkład, zarówno jeśli chodzi o koncepcję badań, jak i ich realizację, analizę wyników oraz publikację.

Najstarszą z prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego jest praca przeglądowa poświęcona pochodnej C-1311 opublikowana w *Drugs of the Future* (IF 0,253, punkty MNiSW 15, szacowany udział Habilitantki- 20%). Jej włączenie w osiągnięcie naukowe jest nieco kontrowersyjne, bowiem została ona opublikowana w 1998 roku, tj. roku obrony doktoratu. Opisuje stan wiedzy na temat aktywności i mechanizmu działania pochodnej imidazoakrydonu, C-1311 (dotarła do II fazy prób klinicznych), na który składają się w dużej mierze prace pana prof. Konopy i Jego zespołu, w tym prace pani dr Augustin opublikowane przed doktoratem. Opisano w niej m.in. aktywność i mechanizm działania polegający na interkalacji do DNA, kowalencyjnym wiązaniu do DNA (sieciowanie DNA) oraz hamowaniu topoisomerazy II w szeregu linii nowotworowych różnego pochodzenia w układach *in vivo* i *in vitro*, również linii opornych wielolekowo. Habilitantka jest w niej autorem korespondencyjnym, więc zapewne z Jej inicjatywy i dzięki Jej koordynacji powstała ta praca. Włączenie jej w osiągnięcie habilitacyjne interpretuję jako zamiar wprowadzenia teoretycznego do kolejnych prac eksperymentalnych z wykorzystaniem tej i innych pochodnych akrydyny. W dokumentacji powinny być jednak wyraźnie rozdzielone prace opublikowane przed obroną doktoratu i po tym fakcie.

Kolejna publikacja składająca się na osiągnięcie naukowe dr Augustin poświęcona jest pochodnej triazoloakrydynowej, C-1305, która podobnie jak poprzednia powoduje uszkodzenie

materiału genetycznego. Praca została opublikowana w *Biochemical Pharmacology* w 2006 roku (IF 3,581, punkty MNiSW 40, szacowany udział Habilitantki- 60%, autor korespondencyjny). W pracy tej Habilitantka wykazała, że C-1305 w stosunkowo niskich stężeniach hamował cykl podziałowy komórek białaczkowych linii MOLT4 i HL60 w fazie G2/M cyklu życiowego, a po dłuższej ekspozycji indukował ich śmierć na drodze apoptozy, przy czym wrażliwsza była linia MOLT4. Szkoda, że ten fakt nie został przedyskutowany w kontekście statusu białka p53 w obu badanych liniach.

Kolejne prace, w których pani dr Augustin jest autorem korespondencyjnym, opublikowane zostały w *Acta Pharmacologica Sinica* w 2013 r. (IF 2,496, punkty MNiSW 30, szacowany udział Habilitantki- 75%) *Cell Biology International* w 2013 r. (IF 1,635, punkty MNiSW 15, szacowany udział Habilitantki- 60%) oraz w 2014 r. (IF 1,635 punkty MNiSW 15, udział Habilitantki- 60%). Miały na celu zbadanie, czy poziom enzymów odpowiedzialnych za aktywację metaboliczną badanych leków ma wpływ na mechanizm ich działania. W tym celu zastosowano różne modele doświadczalne, takie jak linie wyprowadzone z jajnika chomika (CHO) i nadprodukujące określone enzymy detoksyfikujące, komórki nowotworu wątroby linii HepG2 charakteryzujące się niskim poziomem CYP3A4 oraz ich pochodne z nadprodukcją tego enzymu. Najważniejszymi wnioskami płynącymi z tych badań są:

1. Podwyższony poziom izoformy CYP3A4 uwrażliwia komórki CHO na C-1305.
2. Poziom enzymów fazy I metabolizmu ksenobiotyków ma wpływ na rodzaj odpowiedzi komórek CHO na C-1305.
3. Poziom CYP3A4 ma wpływ na wrażliwość, rodzaj śmierci lub indukcję przedwczesnego starzenia komórek HepG2 przez pochodne C-1311 i C-1305.
4. Choć podwyższenie poziomu CYP3A4 zwiększa poziom metabolitów pochodnej C-1748, nie ma to wpływu na odpowiedź komórek HepG2 na ten lek.

Wyniki te są tym bardziej interesujące, że CYP3A4 nie bierze udziału w metabolizmie pochodnych akrydyny C-1311 i C-1305, czyli enzym ten moduluje odpowiedzią komórek na lek w sposób niezależny od jego metabolizmu.

Ostatnie dwie prace badają wpływ pochodnych akrydyny na odpowiedź komórek ostrej białaczki szpikowej w zależności od statusu białka FLT3. Jest to tyrozynowa kinaza receptorowa odpowiedzialna za proliferację komórek hemopoetycznych, a mutacja w jej genie dająca efekt typu „gain of function” dotyczy średnio 30% pacjentów. Praca opublikowana w *Biochemical Pharmacology* w 2015 r. (IF 4,650, punkty MNiSW 40, szacowany udział Habilitantki- 30%, autor na 2 miejscu) dokumentuje, że C-1311 hamuje aktywację FLT3, również formy konstytutywnie aktywnej (FL3-ITD), czemu towarzyszy spadek fosforylacji pro-przeżyciowych kinaz Akt, Erk

oraz spadek anty-apoptycznych białek, Bcl-2 i szczególnie surwiwiny. Komórki z konstytutywnie aktywną formą kinazy są wrażliwsze na ten lek niż komórki posiadające kinazę typu dzikiego lub nie posiadające jej wcale. Co więcej, lek ten skojarzony z chemioterapeutykami stosowanymi w leczeniu białaczki dawał lepsze efekty niż każdy z nich osobno (synergizm). W pracy w *Acta Pharmacologica Sinica* z 2015 r. (IF 2,496, punkty MNiSW 30, szacowany udział Habilitantki- 60%, autor korespondencyjny) wykazano, że również pochodna C-1305 poprzez hamowanie aktywacji FLT3-ITD potęguje śmierć komórek nowotworowych białaczki. Spostrzeżenia te są o tyle istotne, że ukazują kolejny cel działania pochodnych akrydyny: oprócz indukcji uszkodzeń DNA, hamują działanie pro-przeżyciowej kinazy receptorowej, od której uzależnione są niektóre nowotwory. Dodatkowo, działanie to jest długotrwałe.

W moim przekonaniu, dokumentowane wyniki badań są bardzo wartościowe, poszerzają naszą wiedzę na temat działania tego typu związków, co może mieć duże znaczenie w projektowaniu konkretnych terapii z ich udziałem. Na uwagę też zwraca fakt, że prace eksperymentalne charakteryzują się niezwykle kompleksowym podejściem - każdy typ odpowiedzi komórkowej badany jest za pomocą kilku technik, w wielu pracach użytych jest kilka linii komórkowych oraz testowane jest działanie leku w różnych jednostkach czasu (od kilku godzin do kilku dni). Daje to bardzo szczegółowy obraz działania leku na poziomie komórkowym.

Podsumowując, moim zdaniem, osiągnięcie naukowe pani dr Ewy Augustin stanowi znaczny wkład w poznanie biologii komórek nowotworowych i ich reakcji na lek. Spełnia zatem wymagania stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych i określone w Ustawie z dn. 14 marca 2003 r. z późn. zm. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

### **Opinia o pozostałym dorobku naukowym**

Na pozostały dorobek publikacyjny pani dr Augustin składa się 14 prac. 13 zostało opublikowanych w czasopismach z listy JCR, w tym tak prestiżowych periodykach jak: *Apoptosis* (5-letni IF 4,16), *Biochemical pharmacology* (IF 4,77), *Biomacromolecules* (IF 5,75), *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* (IF 3,96). Dwie z nich zostały opublikowane przed obroną doktoratu. Od tego momentu do roku 2006 jest luka publikacyjna, po czym widać w miarę stabilny poziom aktywności naukowej ze znaczącym wzrostem liczby opublikowanych prac od 2013 roku. Znakomita większość prac dotyczy efektów działania pochodnych akrydyny w różnych modelach komórkowych, co tematycznie związane jest z tematyką doktoratu i osiągnięcia naukowego, choć widać stopniowe poszerzanie zainteresowań naukowych Habilitantki. Dla przykładu, w pracy w *Biochemical Pharmacology* z 2013 r. powstałej we współpracy z zespołem z

USA badane jest, czy hamowanie kanałów wapniowych przez Mibefradil uwrażliwia komórki nowotworowe na terapie. Również efektem współpracy z innymi zespołami są publikacje na temat właściwości biologicznych koniugatów nanocząsteczek z doksorubicyną (praca w *Biomacromolecules* z 2013 r.), antynowotworowych właściwości kompleksów miedzi z pochodnymi imidazoli (praca w *Polyhedron* z 2013 r.), czy cytotoksyczności materiałów opatrunkowych na bazie chitozanu (praca w *Carbohydrate Polymers* z 2014 r.),

Udział pani dr Augustin w realizacji prac opublikowanych po obronie doktoratu szacowany jest na 5- 50% i polegał na określeniu wrażliwości komórek w hodowlach *in vitro* na badane związki oraz wykonaniu doświadczeń zmierzających do poznania charakteru odpowiedzi tych komórek na traktowania. W kilku z nich Habilitantka opracowała koncepcja badawczą i współredagowała manuskrypty (w 2 pracach jest autorem korespondencyjnym). Publikacje te są wynikiem współpracy z innymi zespołami, zarówno z rodzimej uczelni, jak i z zagranicy i udziału w realizacji 9 grantów krajowych, z czego w 3 pani dr Augustin była kierownikiem (grat KBM w latach 1999-2001, Fundacji na Rzecz Wspierania Rozwoju Polskiej Farmacji i Medycyny w latach 2002-2005 i grant MNiSW w latach 2009-2011). Habilitantka jest też współautorką zgłoszenia patentowego.

Parametry bibliometryczne całego dorobku publikacyjnego Habilitantki to wg bazy Web of Science: łączny IF - 58.945 , liczba cytowań - ponad 168 , Indeks Hirscha - 7. Trzeba zaznaczyć, że  $\frac{3}{4}$  prac zostało opublikowanych w ostatnich 5 latach, a więc ich rozpoznanie w środowisku naukowym jest jeszcze niskie. Niemniej jednak parametry te świadczą o wysokim poziomie działalności naukowej, którą uzupełniają liczne doniesienia konferencyjne (w sumie 73). Pani dr Augustin jest rozpoznawana w międzynarodowym środowisku naukowym zajmującym się biologią komórki nowotworowej i terapią chorób nowotworowych, o czym świadczy fakt, że wielokrotnie była zapraszana do recenzowania prac w takich czasopismach jak m.in. *Biochemical Pharmacology* (aż 21 razy), *ChemMedChem*, *Cell Biology International*, czy *Journal of Integrative Medicine*. Działalność naukowa Habilitantki była nagradzana wielokrotnie przez Rektora PG.

Podsumowując, stwierdzam, iż dorobek naukowy pani dr Augustin świadczy o Jej samodzielności i jest wystarczający, aby ubiegać się o stopień doktora habilitowanego.

### **Opinia o dorobku dydaktycznym, organizacyjnym i współpracy międzynarodowej**

Działalność dydaktyczna pani dr Augustin jest bardzo bogata. Oprócz wygłaszania wykładów, prowadzenia seminariów i ćwiczeń, co jest związane z etatem naukowo-dydaktycznym oraz starszego wykładowcy, Habilitantka opracowała programy przedmiotów „Kultury tkankowe” dla kierunku Biotechnologia oraz zorganizowała zaplecze w postaci specjalistycznych

laboratoriów. Jest też redaktorką i główną twórczynią skryptu na temat hodowli komórkowych dedykowanemu studentom Politechniki Gdańskiej. Część tych aktywności była wykonana w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego POKL, 2008-2010.

Pani dr Augustin regularnie sprawowała opiekę nad dyplomantami – razem 51 osób od 2000 roku. Kilkukrotnie sprawowała opiekę nad doktorantami, obecnie zaś oficjalnie pełni funkcję promotora pomocniczego w 1 przewodzie doktorskim. Co istotne, udział dyplomatów czy doktorantów w pracach badawczych jest udokumentowany współautorstwem publikacji. Habilitantka wspiera też prace studenckiego koła biotechnologów. Z tych danych widać, że pani dr Augustin jest bardzo zaangażowana w edukację młodej kadry i robi to z sukcesem. Jej praca jest doceniana przez studentów i władze uczelni (nagrody Rektora PG w 2000, 2001 i 2004 r., w tym jedna z nominacji studentów - dla Najlepszego Opiekuna Roku w 2000 r.).

Jeśli chodzi o aktywność organizacyjną, to pani dr Augustin sprawowała liczne funkcje na rzecz rodzimej uczelni, np. brała udział w pracach komisji rekrutacyjnej, zorganizowała i sprawuje opiekę nad specjalistycznymi laboratoriami studenckimi, opiniuje skrypty i podręczniki akademickie, dba o zakup nowych podręczników przez uczelnianą bibliotekę.

Habilitantka jest członkiem European Cell Death Organization oraz American Association for Cancer Research. Aktywnie uczestniczy w krajowych oraz międzynarodowych konferencjach naukowych i regularnie recenzuje publikacje w czasopismach międzynarodowych (o czym pisałam wcześniej). Pani dr Augustin dwukrotnie przebywała na stażu w laboratoriach zagranicznych: 3 miesiące w Uniwersytecie w Aberdeen i 1 miesiąc w Instytucie G. Roussy we Francji - oba staże odbyła przed obroną doktoratu.

### **Wniosek końcowy**

W mojej opinii osiągnięcie naukowe pani dr Ewy Augustin stanowi znaczny wkład w rozwój uprawianych przez Nią dyscyplin naukowych w obszarze nauk biologicznych. Uważam też, że Jej aktywność naukowa oraz na innych polach określonych w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. (z późniejszymi zmianami) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki uzasadniają nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w zakresie biologii.

*Anna Herman - Antosiewicz*

Anna Herman-Antosiewicz