INSTYTUT GRUŹLICY I CHORÓB PŁUC
Zakład Genetyki i Immunologii Klinicznej
01-138 Warszawa, ul. Płocka 26
tel. (22) 43-12-158, (22) 43-12-105
fax (22) 43-12-358
e-mail: immuno@igichp.edu.pl

OCENA

dorobku naukowego i jednotematycznego cyklu publikacji

„Celowane terapie naczyniowe w schorzeniach opartych na zaburzeniach neowaskularnych"

w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego

w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biochemii

doktor nauk chemicznych Patrycji Nowak-Śliwińskiej.

Podstawą niniejszej recenzji były dokumenty przesłane przez Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie:

1. Autoreferat
2. Wykaz opublikowanych prac naukowych
3. Informacje dodatkowe o działalności naukowej i popularyzatorskiej, współpracy naukowej i osiągnięciach dydaktycznych
4. Teksty publikacji stanowiących jednotematyczny cykl prac będących podstawą postępowania habilitacyjnego
5. Oświadczenia współautorów prac stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego, dotyczące ich udziału we wskazanych publikacjach
6. Teksty prac naukowych nie wchodzących w skład osiągnięć stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego

Przedłożone dokumenty dają wystarczający podstawę do rzetelnej oceny osiągnięć i aktywności naukowej Kandydatki, w tym tematycznego cyklu publikacji.

I. OCENA AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ

Doktor nauk chemicznych Patrycja Nowak-Śliwińska ukończyła Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, uzyskując w roku 2001 tytuł magistra w zakresie chemii biologicznej na podstawie pracy zatytułowanej „Zieleń izocjaninowa jako potencjalny fotouczulacz w terapii fotodynamicznej czerniaka". Pracę przygotowała pod opieką profesor Grażyny Stochiel. W latach 2001-2006 była uczestniczką studiów doktoranckich prowadzonych przez Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Tytuł doktora nauk chemicznych otrzymała w roku 2006 w oparciu o rozprawę „Selected prophirin and cyanine photosensitizers in PDT of melanoma malignum and novel optical sensors for tissular pO_2 measurement". Promotorem pracy była profesor Grażyna Stochiel, Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. W roku

2010 ukończyła dwuletnie studia podyplomowe Advanced Studies in Management of Biotech, Medtech & Pharma.

W latach 2007-2010 pracowała w Grupie Fotoniki Medycznej na Politechnice Federalnej w Lozannie, gdzie realizowała projekt „ Development of non-invasive oxygen measurements". Następnie odbyła roczny staż naukowy (2010-2011) w Laboratorium Angiogenezy, Katedry Onkologii Klinicznej VU w Amsterdamie kierowanym przez profesora Arjana W. Griffoena uczestnicząc w badaniach na regulacją angiogenezy nowotworowej. W maju 2011 dołączyła do grupy badawczej profesora Patrice Jichlinski na Wydziale Urologii Szpitala Uniwersyteckiego w Lozannie, w której pełniła funkcję kierownika projektu międzynarodowego „Screening platform for optimal drug combinations", analizującego efektywność złożonych schematów terapii przeciwnowotworowej.

Od grudnia 2013 kontynuuje badania naukowe jako członek zespołu profesora Paula J. Dysona w Laboratorium Chemii Metaloorganicznej i Medycznej w Instytucie Nauk i Inżynierii Chemicznej EPFL. Jako kierownik projektów jest obecnie odpowiedzialna za projektowanie i realizację badań nad właściwościami przeciwnowotworowymi i antyangiogennymi nowych związków metaloorganicznych opartych na bazie rutenu. W grudniu 2013 uzyskała stypendium Marie Curie Intra-European Fellowship for Career Development w ramach FP7-PEOPLE -2013-IEF na realizację w latach 2014-2016 autorskiego projektu „Refined screening for novel targets in the tumor vasculature" ukierunkowanego na poszukiwanie nowych potencjalnych celów biologicznych w śródbłonku guzów nowotworowych.

Dr Patrycja Nowak-Śliwińska jest autorem i współautorem 28 prac naukowych (w tym 23 prac oryginalnych, 4 prac poglądowych, 1 monografii, 2 rozdziałów książek). 26 prac powstało po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych. Jako pierwszy autor Habilitantka występuje w 12 pracach oryginalnych.

Łączny Impact Factor uzyskany przez Habilitantkę wynosi 132,711, liczba cytowań wg Web of Science 269, indeks Hirsch'a wynosi 8.

Dr Patrycja Nowak-Śliwińska jest współautorem 2 patentów międzynarodowych opublikowanych w 2012 i 2014 roku. Oba dotyczą nowych cząsteczek o istotnym potencjale terapeutycznym w onkologii.

Habilitantka jest laureatką szeregu nagród międzynarodowych i stypendiów kongresowych. Z najważniejsze należy uznać nagrodę Rektora EPFL za osiągnięcia naukowe i zaangażowanie w pracę (2010), nagrodę Amerykańskiego Towarzystwa Chemicznego za często cytowaną publikację (2012) oraz uzyskanie stypendium naukowego w ramach programu Marie Curie (2013).

Dr Nowak-Śliwińska była wykładowcą na szeregu prestiżowych konferencji i kursów szkoleniowych, w tym w Harvard Medical School, czy też warsztatach organizowanych przez Uniwersytet w Amsterdamie i Genewie.

Warto podkreślić, że dotychczasowe zainteresowania naukowe Kandydatki bardzo konsekwentnie nawiązywały do zagadnień związanych z poszukiwaniem nowych terapii przeciwnowotworowych, często w oparciu o nowatorskie technologie, czy też rozwijane nowe cząsteczki. Temu zagadnieniu poświęcona była zarówno praca doktorska Habilitantki, jak i programy badawcze które realizowała w kolejnych latach.

W tym kontekście należy wyróżnić cztery istotne kierunki badań realizowanych przez dr Nowak-Śliwińską:

1. Poszukiwanie nowych cząsteczek o właściwościach fotouczulaczy z perspektywą ich aplikacyjnego zastosowania w medycynie

Badania w tym zakresie Habilitantka prowadziła jeszcze w okresie studiów doktoranckich, analiza właściwości zieleni indocyjaninowej i jej ewentualnej przydatności w fototerapii czerniaka stanowiły temat jej pracy doktorskiej. Po uzyskaniu tytułu doktora Kandydatka w ramach współpracy międzynarodowej kontynuowała badania nad alternatywną grupą związków – oceniając *in vitro* wydajność jodynowych pochodnych boronu, zwłaszcza w zakresie tworzenia tlen singletowego oraz oporności na fotowybielanie. Doświadczenia prowadzone w modelach biologicznych obejmowały wpływ na cykl komórkowy oraz wydajność zamykania naczyń w błonie kosmówkowo-omoczniowej zarodków kurzych. Wyniki zawarto w dwóch publikacjach oryginalnych o łącznym IP 7.189

2. Niskoinwazyjne pomiary parcjalnego ciśnienia tlenu

Badania w tym zakresie Habilitantka prowadziła jeszcze w okresie studiów doktoranckich. Pogłębiła je w okresie późniejszym jako główny wykonawca grantu realizowanego we współpracy z dr Georges Wagnieres z Politechniki Federalnej w Lozannie. Celem projektu

było opracowanie nowych biokompatybilnych sensorów tlenu przydatnych do badania jego ciśnienia parcjalnego w tkance. Bezpośrednią kontynuacją były prace nad modyfikacją techniki czasowo-rozdzielczej spektrofotometrii do badania czasów życia opóźnionej fluorescencji. W efekcie opracowano metodologię umożliwiającą dokonanie nowatorskich pomiary tkankowego pO_2 w warunkach *in vivo* .

Wyniki zawarto w trzech publikacjach oryginalnych o łącznym IP 5.462

3. Nowe inhibitory angiogenezy w modelu doświadczalnym AMD

Istotne miejsce w dorobku naukowym dr Nowak-Śliwińskiej zajmują prace nad nowymi inhibitorami angiogenezy, przeznaczonymi do stosowania w połączeniu z terapią fotodynamiczną w leczeniu patologii narządu wzroku, zwłaszcza wysiękowego zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem (age-related macular degeneration, AMD), a także dedykowanymi do ewentualnych aplikacji w onkologii. Szczególnie interesujące wydają się zagadnienia doświadczalne badane przez Habilitantkę we współpracy z zespołem profesora A.W. Griffioena w Amsterdamie, poświęcone przede wszystkim identyfikacji nowych markerów śródbłonka nowotoworowego, aktywności leków anty-angiogennych w guzach litych oraz roli prolaktyny w patomechanizmie chorób z istotną komponentą naczyniową.

Wyniki zawarto w pięciu publikacjach oryginalnych o łącznym IP 27.938

4. Terapie skojarzone w leczeniu AMD

Nawiązaniem do wcześniejszych zainteresowań dr Nowak-Śliwińskiej są badania nad zastosowaniem światła bądź efektów termicznych do zwiększenia wydajności leków przeciwnowotworowych. Kandydatka wraz ze współpracownikami opracowała nowy, oparty na fotoaktywacji farmakologicznej sposób eliminowania lekoopornych komórek nowotworowych za pomocą ich naświetlania. Hipotezę badawczą oparto na fakcie, iż komórki wielolekooporne charakteryzuje zwiększona liczba lizosomów w cytoplazmie. Niezwykle interesujące wydają się badania Habilitantki nad wykorzystaniem hipertermii w leczeniu guzów litych, zwłaszcza w połączeniu za działaniem metaloorganicznych kompleksów rutenu.

Wyniki zawarto w dwóch publikacjach oryginalnych o łącznym IP 13.84

W podsumowaniu należy zaznaczyć, że aktywność zawodowa Kandydatki jest wzorcowym przykładem przemyślanej i konsekwentnie realizowanej ścieżki rozwoju naukowego, dowodzi jej wielkiego zaangażowania zarówno intelektualnego, jaki i emocjonalnego w realizowane

badania, świadczy o wyjątkowej pracowitości i doskonałej organizacji. Dotychczasowe osiągnięcia dr Nowak-Śliwińskiej wskazują na jej stale rosnącą pozycję naukową w podejmowanym przez nią zakresie tematycznym .

II OCENA TEMATYCZNEGO CYKLU PUBLIKACJI

Przedstawiony do oceny cykl publikacji „Celowane terapie naczyniowe w schorzeniach z zaburzeniami neowaskularyzacji" obejmuje sześć prac oryginalnych i dwie poglądowe z lat 2010-2014 o łącznej wartości bibliometrycznej IF – 45,56, MNiSW – 320. Warto podkreślić, że we wszystkich dr Nowak-Śliwińska jest pierwszym, bądź ostatnim autorem.

W pracy „Processing of fluorescence angiograms for the quantification of vascular effects induced by antiagniogenic agents ihn the CAM model" (IF- 2,39), deklarowany udział w realizacji – 80% Habilitantka przedstawiła opracowane przez siebie modyfikacje modelu *in vivo* powszechnie stosowanego do badania aktywności angiogennej związków chemicznych i biologicznych, które dotyczą metody obrazowania metodą angiografii fluorescencyjnej z udziałem czynników zwiększania kontrastu oraz wdrożenia zautomatyzowanego oprogramowania do kwantyfikacji unaczynienie błony kosmówkowo-naczyniowej zarodka kurzego. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, iż zaproponowane przez dr Nowak-Śliwińską rozwiązania pozwalają na uzyskanie bardzo dobrej rozdzielczości obrazu, umożliwiającej analizę nie tylko głównych naczyń krwionośnych, ale również sieci kapilarnej. Ponadto opracowane przez nią narzędzie do automatycznej analizy obrazu jest oparte na powszechnie dostępnym, bezpłatnym programie ImageJ, co istotnie podnosi merytoryczne znaczenie tego osiągnięcia naukowego dla społeczności naukowej.

W pracy „Vascular regrowth following photodynamic therapy in chicken embryo" (IF- 6,188), deklarowany udział w realizacji – 75% dr Nowak-Śliwińska przeanalizowała poszczególne etapy procesu rewaskularyzacji po zastosowaniu PDT bazując ponownie na modelu CAM, który w jej ocenie bardzo dobrze odtwarza warunki unaczynienia siatkówki. Badała przebieg i dynamikę zjawiska odbudowy naświetlonych naczyń, jako pierwsza potwierdziła, wcześniej jedynie postulowany, udział w tych procesach proliferacji *de novo* komórek śródbłonka. Posługując się metodami immunohistochemicznymi i molekularnymi zidentyfikowała główne

mediatory odpowiadające za wzbudzenie i aktywność badanych procesów, przede wszystkim VEGF1 i VEGF2.

W pracy „Organometallic ruthenium (II) compounds with anti-angiogenesis activity" (IF- 4,802), deklarowany udział w realizacji – 75% Habilitantka kontynuowała badania nad związkami o działaniu antyangiogennym analizując właściwości małocząsteczkowych związków metaloorganicznych na bazie rutenu opracowanych przez grupę badawczą prof. Dysona z myślą o potencjalnym zastosowaniu w onkologii. Wcześniej potwierdzono ich znaczące powinowactwo do białek i DNA, a w efekcie stymulujący wpływ na apoptozę komórek nowotworowych. Kandydatka jak pierwsza potwierdziła anty-angiogenne właściwości tej grupy związków, wykazała ich selektywny, hamujący wpływ na proliferację i migrację komórek śródbłonka naczyń, tworzenie struktur tubularnych oraz apoptozę w warunkach *in vitro* .
Jest to pierwsza publikacja wskazująca na potencjalne aplikacyjne zastosowania kompleksów rutyny o właściwościach zarówno cytostatycznych, jak i angiogennych.
Publikacja została wyróżniona w 2012 nagrodą Amerykańskiego Towarzystwa Chemicznego.

W pracy „Angiostatic kinase inhibitors to sustain photodynamic angio-occlusion" (IF- 4,125), deklarowany udział w realizacji – 75% dr Nowak-Śliwińska analizowała możliwości poprawy wydajności terapii fotodynamicznej AMD poprzez skojarzenie jej z inhibitorami kinazy tyrozynowej blokującymi aktywację receptorów komórkowych dla czynników wzrostu, zwłaszcza VEGF. Warto podkreślić, że w pracy wykorzystano opublikowaną wcześniej przez Habilitantkę autorską modyfikację metody analizy obrazu w modelu CAM dla ilościowej oceny morfologii naczyń w miejscu punktowej aplikacji terapii fotodynamicznej. Zrealizowane badania doświadczalne potwierdziły korzystny efekt skojarzenia obu terapii pod postacią istotnego wydłużenia czasu okluzji naczyń. Wykazano synergistyczny efekt tego połączenia, umożliwiający zastosowanie 10 krotnie niższej dawki inhibitorów aplikowanych po PDT, niż w przypadku fizjologicznej angiogenezy. Najsilniejsze działanie antyangiogenne zaobserwowano dla połaczenia PTD z sorafenibem, inhibitorem wielokinazowym, co potwierdza kluczowe znaczenie szlaków regulujących Raf, Mek oraz Erk.

W pracy „Low-dose angiostatic tyrosine kinase inhibitors improve photodynamic therapy for cancer: lack of vascular normalization" (IF- 4,753), deklarowany udział w realizacji – 65% dr

Nowak-Śliwińska badała skuteczność różnych schematów skojarzenia PDT ze stosowanymi już w klinice inhibitorami kinazy tyrozynowej w modelu raka jajnika oraz raka jelita grubego. Badacze potwierdzili postulowaną wcześniej skuteczność zastosowania w terapii skojarzonej suboptymalnych dawek leków, zwłaszcza aksitinibu, który charakteryzował się najwyższym spośród badanych preparatów powinowactwem do receptora VEGF2. Wykazano również, kluczowe znaczenie dla tego efektu procesu hamowania angiogenezy, a nie normalizacji naczyń nowotworu.

W pracy „Optimization and regeneration kinetics of lymphatic specific-photodynamic therapy in the mouse dermis" (IF- 3,972), deklarowany udział w realizacji – 45% analizowano warunki zastosowania PDT do selektywnej okluzji naczyń limfatycznych bez uszkadzania sąsiadujących tkanek prawidłowych i ich unaczynienia. Udowodniono terapeutyczny efekt niskich dawek fotouczulacza podawanego miejscowo, a także ścisłą zależność pomiędzy zastosowaną dawką światła, a utrzymywaniem się okluzji w czasie. Ważnym wnioskiem poznawczym zawartym w tej pracy była obserwacja, iż regeneracja naczyń limfatycznych dokonuje się w mechanizmie regeneracji epimorficznej, a nie limfangiogenezy.

Obie prace poglądowe przedstawione do oceny
„Angiogenesis inhibition for improvement of photodynamic therapy: the revival of promising idea" (IF- 9,93), deklarowany udział w realizacji – 65%
„Photodynamic therapy for polypoidal choroidal vaculopathy" (IF- 9,44), deklarowany udział w realizacji – 70%
stanowią doskonały i analityczny przegląd aktualnej wiedzy w danym zakresie tematycznym. W obu krytycznie omówiono istniejące przesłanki wskazujące na zasadność prób aplikacji terapii fotodynamicznej do praktyki klinicznej, również w schematach leczenia skojarzonego, wskazano na potencjalne wyzwania w tym zakresie.

W podsumowaniu należy zaznaczyć, że przedstawiony cykl publikacji reprezentuje wyjątkowo zwarty i logiczny obraz wieloletnich badań naukowych, prowadzonych bardzo konsekwentnie i świadomie. Podejmowane zagadnienia mają charakter nowatorski i interdyscyplinarny. Należy też podkreślić znaczące walory aplikacyjne projektów realizowanych przez dr Nowak-Śliwińską w szeroko rozumianej medycynie człowieka.

V. Wniosek końcowy

Podsumowując całokształt działalności naukowej oraz ocenę jednotematycznego cyklu publikacji stwierdzam, że dr Patrycja Nowak-Śliwińska jest młodym badaczem, który konsekwentnie realizuje swoje zainteresowania naukowe, z powodzeniem łączy głęboką wiedzę merytoryczną i znajomość złożonego warsztatu metodologicznego. Jej dotychczasowe osiągnięcia i ścieżka rozwoju naukowego dowodzą również cennej ciekawości poznawczej oraz wartej uznania umiejętności poszukiwania nowatorskich zastosowań aplikacyjnych dla prowadzonych badań .

Bardzo wysoko oceniam całokształt przedstawionego do oceny dorobku naukowego dr Patrycji Nowak-Śliwińska i przedkładam Wysokiej Radzie wniosek o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Warszawa 01.07.2019

KIEROWNIK
Zakładu Genetyki i Immunologii Klinicznej
Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc

Dr hab. n. med. Joanna Chorostowska-Wynimko
Prof. nadzw. IGiChP