

ul. Strzeszyńska 32  
60-479 Poznań

tel. +48/61/657 91 00  
fax +48/61/823 32 35  
e-mail: igcz@man.poznan.pl

[www.igcz.poznan.pl](http://www.igcz.poznan.pl)

prof. dr hab. Maciej Giefing  
dyrektor Instytutu Genetyki Człowieka PAN  
kierownik Zakładu Genetyki Nowotworów  
e-mail: giefingm@man.poznan.pl

### **Recenzja Osiągnięcia Naukowego pt.**

**„Znaczenie wewnątrztkankowych przemian estrogenów w prognozowaniu przeżycia pacjentów oraz ścieżki sygnałowej zależnej od receptora estrogenowego typu  $\beta$  w odpowiedzi na hipoksję w raku jelita grubego”  
oraz pozostałych osiągnięć naukowych  
w postępowaniu habilitacyjnym dr Agnieszki Rawłuszko-Wieczorek**

#### **1) Życiorys naukowy**

Dr Agnieszka Rawłuszko-Wieczorek jest absolwentką Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, gdzie w roku 2008 ukończyła kierunek biotechnologia. W latach 2009-2015 pracowała jako asystentka w Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu i realizowała rozprawę doktorską pod opieką prof. dr hab. Pawła Jagodzińskiego. Rozprawa dotyczyła regulacji epigenetycznej ekspresji genów powiązanych z odpowiedzią na hipoksję w raku jelita grubego. Tym samym, już na początku pracy naukowej dr Rawłuszko-Wieczorek zainteresowała się problematyką patologii molekularnej raka jelita grubego. Badania w tym obszarze habilitantka kontynuuję także obecnie.

Chciałbym mocno podkreślić fakt uzyskania przez habilitantkę niezwykle prestiżowego stypendium Komisji Europejskiej - MSCA individual fellowship (Horyzont 2020), dzięki któremu odbyła dwuletni staż podoktorski w Uniwersytecie w Stuttgarcie w Niemczech w latach 2015-2017. Po powrocie do Polski kontynuowała zatrudnienie na Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu, najpierw w Katedrze i Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej a następnie od roku 2018 Instytucie Biostrukturalnych podstaw Nauk Medycznych w Zakładzie Histologii i Embriologii gdzie pracuje do dziś na stanowisku adiunkta.

## **2) Ocena Osiągnięcia Naukowego – cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. Pkt 2b Ustawy**

Osiągnięcie Naukowe przedstawione do recenzji stanowi cykl czterech prac opublikowanych w latach 2013-2023 pod zbiorczym tytułem: „Znaczenie wewnątrztkankowych przemian estrogenów w prognozowaniu przeżycia pacjentów oraz ścieżki sygnałowej zależnej od receptora estrogenowego typu  $\beta$  w odpowiedzi na hipoksję w raku jelita grubego”. We wszystkich pracach tworzących cykl habilitantka jest pierwszą autorką, w dwóch także korespondencyjną. Wszystkie są pracami z listy filadelfijskiej o przeciętnym współczynniku oddziaływania IF w zakresie 2,108 – 2,305 dla dwóch starszych prac oraz dobrym współczynniku oddziaływania IF w zakresie 5,168 – 6,2 dla dwóch nowszych prac. Sumaryczny IF osiągnięcia przekroczył 10 punktów IF lub 15 uwzględniając publikację w czasopiśmie, które utraciło IF rok po ukazaniu się publikacji. Jest to obecnie wynik przeciętny. Nie mniej jednak, rosnąca punktacja kolejnych publikacji jest odzwierciedleniem postępu naukowego dokonanego przez habilitantkę na przestrzeni lat. Należy również podkreślić fakt bardzo dużej spójności tematycznej omawianego osiągnięcia co świadczy o konsekwencji naukowej habilitantki i sprecyzowanych zainteresowaniach naukowych.

Przed omówieniem poszczególnych prac w autoreferacie, habilitantka zamieściła krótkie wprowadzenie teoretyczne w tematykę badawczą będącą przedmiotem jej naukowych zainteresowań jak również przedstawiła główne cele dociekań. Pomimo zwięzłej formy wprowadzenie jest ciekawe, napisane dobrą polszczyzną i dostarcza niezbędnego uzasadnienia podjętych badań.

Przejdę teraz do omówienia poszczególnych publikacji cyklu.

**Pierwsza z prac** wchodzących w cykl dotyczy znaczenia obniżonej ekspresji genu *STS* kodującego sulfatazę steroidową w patogenezie raka jelita grubego. Niestety stwierdzam, że praca ta jest obciążona wieloma błędami zarówno w projektowaniu jak i interpretacji wyników. Po pierwsze ograniczono się jedynie do badania transkryptu genu *STS* pomijając istotniejsze w tym przypadku badanie obecności białka. Wiadomo bowiem, że poziom transkryptu zazwyczaj nie przekłada się w sposób liniowy na poziom syntezy białka. Ponadto, obserwowano jedynie graniczną istotność statystyczną ( $p=0,0453$ ) a różnice pomiędzy średnimi wartościami dla grupy badanej i kontrolnej były nieznaczne i zawierały się w obrębie odchyłeń standardowych. Tym samym konkluzja habilitantki, że „Wyniki te potwierdzają hipotezę o ochronnym działaniu E2 w CRC” nie ma uzasadnienia w świetle otrzymanych wyników eksperymentalnych. Podobnie, dalsze eksperymenty przedstawione w omawianej publikacji, dotyczące wpływu maślanu sodu na wzrost komórek, dały wyniki o tendencji zgodnej ze stawianą hipotezą tylko dla jednej linii komórkowej – HCT-116 (ryc.2 publikacji). Wynik ten był jednak nieistotny statystycznie. Podsumowując, pierwsza z prac wchodzących w cykl jest pracą skromną warsztatowo. Wyciągane konkluzje są natomiast w większości nadinterpretacją otrzymanych wyników. Pewnym usprawiedliwieniem wydaje się jedynie fakt, że praca powstała ponad dekadę temu kiedy bardziej zaawansowane metody eksperymentalne nie istniały lub były trudno dostępne. Nie zmienia to jednak faktu, że pracę tą oceniam jaką nie mającą znaczącego wpływu na rozwój dyscypliny nauki medyczne.

**Druga praca** w cyklu jest kontynuacją i rozszerzeniem dociekań naukowych habilitantki rozpoczętych w trakcie prac nad pierwszą z ocenianych prac. Przedmiotem dociekań są geny *OATP3A1* i *OATP4A1* kodujące specyficzne białka transportujące. Niezrozumiałe jest dla mnie dlaczego ponownie ograniczono się jedynie do badania ekspresji wyżej wymienionych genów na poziomie mRNA skoro badanie na poziomie białka choćby techniką IHC jest ogólnodostępne i tanie. Nie mniej jednak jest to praca dużo ciekawsza, dostarczająca istotnych spostrzeżeń naukowych dotyczących mechanizmu leżącego u podstaw obniżonej ekspresji genu *OATP3A1*. Habilitantka wykazuje zjawisko hipermetylacji regionu okołopromotorowego badanego genu zarówno w przypadkach pierwotnych raka jelita grubego jak i liniach komórkowych wyprowadzonych z komórek tego nowotworu. Ponadto przeprowadzono analizę ekspresji badanego genu po globalnej demetylacji z zastosowaniem 5-azadeoksytydyny co spowodowało wzrost ekspresji *OATP3A*. Jest to dowód nie wprost na epigenetyczną regulację ekspresji tego genu jak również argument za znaczeniem tego genu w patogenezie CRC. Tym samym wpływ omawianej publikacji na rozwój dyscypliny nauki medyczne oceniam pozytywnie.

**Trzecia praca** w cyklu stanowiącym osiągnięcie habilitacyjne dr Rawłuszko-Wieczorek jest zasadniczym postępowaniem zarówno jeśli chodzi o zastosowane techniki eksperymentalne jak i o znaczenie uzyskanych wyników dla nauki. Praca ta dotyczy wewnątrztkankowych stężeń estronu i  $17\beta$ -estradiolu, których pomiar dokonywany był z zastosowaniem opracowanej przy współudziale habilitantki ultraczułej techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas. Obrazuje to zaangażowanie dr Rawłuszko-Wieczorek i jakże istotne w pracy naukowej wyjście poza sferę technik dostępnych w ośrodku macierzystym. Wykorzystanie w prowadzonych badaniach tej zaawansowanej techniki pozwoliło na uzyskanie wartościowych wyników i wysnucie istotnego wniosku. Zaobserwowano, że wysokie stężenie estronu koreluje z lepszym przeżyciem pacjentów charakteryzujących się wysoką ekspresją *ESR1*. Tym samym wskazano na powiązanie poziomów stężeń estronu z receptorami estrogenowymi a dalej z przeżyciem. Wyniki te dobrze wpisują się w dotychczasową literaturę przedmiotu zwiększając wiedzę na temat molekularnych podstaw patogenezy raka jelita grubego.

**Czwarta praca** w cyklu dotyczy bardzo istotnego zagadnienia w biologii nowotworów jakim jest zrozumienie znaczenia warunków beztlenowych dla fizjologii komórek nowotworowych. W pracy tej dr Rawłuszko-Wieczorek zastosowała zaawansowane techniki inżynierii genetycznej takie jak lentiwirusowa transdukcja nowotworowych linii komórkowych konstruktami ekspresyjnymi czy mutageneza kierunkowa w celu wyprowadzenia linii komórkowych z mutacją punktową receptora estrogenowego typu  $\beta$ . Rozdział *materiały i metody* tej publikacji bardzo dobrze świadczy o biegłości habilitantki w kwestii aktualnie dostępnych technik eksperymentalnych w szeroko pojętej genetyce. Jest to bez wątpienia najlepsza publikacja wchodząca w oceniany cykl. Dostarcza ona cennych wyników na temat genów będących pod kontrolą receptora estrogenowego typu  $\beta$  oraz roli tego receptora w regulacji ekspresji genów w warunkach hipoksji. Wykazano, że omawiany receptor po części hamuje szlak odpowiedzi na hipoksję w komórce. Są to wyniki nowatorskie zwiększające rozumienie podłoża molekularnego omawianych procesów biologicznych. Otrzymane wyniki dotyczące funkcji receptora estrogenowego typu  $\beta$  mogą także w dalszej perspektywie przyczynić się do powstania nowych terapii raka jelita grubego. Te istotne wyniki zostały opublikowane w liczącym się międzynarodowo czasopiśmie *BBA - molecular basis of disease*. Jest to praca przygotowana niezwykle starannie i zawierająca liczne, informatywne ryciny obrazujące globalne zmiany ekspresji genów będące skutkiem prowadzonych eksperymentów.

Omawiane prace wykazują dużą spójność tematyczną oraz dobrze obrazują rozwój naukowy habilitantki. Ma to odzwierciedlenie w podejmowaniu coraz ciekawszych tematów badawczych oraz włączaniu do warsztatu eksperymentalnego zaawansowanych technik laboratoryjnych.

**Podsumowując, stwierdzam że wśród wskazanych do oceny osiągnięć znajduje się cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b. Jednocześnie, pomimo przedstawionych zarzutów do pierwszej z prac wchodzących w opiniowany cykl, moja całościowa ocena cyklu jest pozytywna i stwierdzam, że stanowi on znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki medyczne.**

### **3) Ocena pozostałych osiągnięć naukowych, organizacyjnych oraz dorobku dydaktycznego**

Dr Agnieszka Rawłuszko-Wieczorek po uzyskaniu stopnia doktora opublikowała 14 prac naukowych z listy filadelfijskiej z wyłączeniem prac wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego. Prace te posiadają dobry, łączny współczynnik oddziaływania  $IF > 60$ . Na uznanie zasługuje fakt, że habilitantka aż w dziewięciu z nich jest pierwszą autorką. Jednak poziom cytowalności tych prac jest przeciętny i wynosi niespełna 300 cytowań. Prace te wykazują dużą spójność tematyczną z głównym nurtem badawczym habilitantki i dotyczą w ogromnej większości tematyki z obszaru biologii molekularnej i genetyki nowotworów. Poszerzają one rozumienie mechanizmów rządzących regulacją genetyczną jak i epigenetyczną ekspresji genów powiązanych z procesem nowotworzenia w guzach litych. **Stwierdzam, że pozostałe osiągnięcia naukowe habilitantki stanowią również znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne.**

Uznanie budzi także niezwykle ważna umiejętność dr Agnieszki Rawłuszko-Wieczorek, charakterystyczna dla samodzielnych pracowników nauki, jaką jest zdobywanie funduszy na prowadzenie badań naukowych. Habilitanta kierowała trzema projektami, na które finansowanie uzyskała z NCN jak również dwoma projektami finansowanymi ze źródeł zagranicznych w tym także bardzo prestiżowego stypendium Marii Skłodowskiej-Curie ze środków programu Horyzont 2020. Świadczy to o dobrej umiejętności habilitantki do stawiania hipotez badawczych, projektowania eksperymentów jak i zarządzania zespołem co jest warunkiem niezbędnym dla samodzielnego pracownika nauki. Habilitantka wykazuje także wystarczającą aktywność konferencyjną dla osoby na tym etapie kariery naukowej jak i

aktywność recenzenta dla czasopism naukowych, w tym dla znanych czasopism z obszaru epigenetyki takich jak *Clinical Epigenetics*, *Epigenetics* czy *Epigenetics & Chromatin*.

Uwagę zwraca także fakt dużej liczby kierowanych przez dr Rawłuszko-Wieczorek studenckich grantów badawczych jak również sprawowanie opieki lub funkcji promotora magistrantów co podkreśla jej rolę jako dobrego mentora młodszej kadry naukowej.

**Podsumowując stwierdzam, że aktywność naukowa habilitantki jest w pełni adekwatna do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.**

#### 4) Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawione do recenzji Osiągnięcie Naukowe w postaci cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zatytułowane: „Znaczenie wewnątrztkankowych przemian estrogenów w prognozowaniu przeżycia pacjentów oraz ścieżki sygnałowej zależnej od receptora estrogenowego typu  $\beta$  w odpowiedzi na hipoksję w raku jelita grubego” jak i pozostałe osiągnięcia naukowe Pani dr Agnieszki Rawłuszko-Wieczorek stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki medycznej i spełniają wymogi stawiane kandydatom na stopień doktora habilitowanego, zgodnie z kryteriami określonymi w art. 219 Ustawy "Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.U. z 2021 r. poz. 478 z późniejszymi zmianami). Tym samym, wnoszę do Kapituły Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Agnieszce Rawłuszko-Wieczorek.

Maciej Giefing