



dr hab. Michał Żmijewski, Prof. nadzw. GUMed  
Katedra Histologii,  
Gdański Uniwersytet Medyczny,  
ul. Dębinki 1a, Pokój 230  
80-211 Gdańsk, Pomorskie  
Polska

Tel: +48 583491455

Fax: +48 583491419

Email: mzmijewski@gumed.edu.pl

Gdańsk, 20.04.2015

Ocena osiągnięcia naukowego oraz pozostałej aktywności naukowej, dydaktycznej oraz organizacyjnej, **dr Agnieszki Wolnickiej-Głubisz** w związku z postępowaniem habilitacyjnym prowadzonym na Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Temat:

**Stan zapalny i czerniak, jako efekt działania promieniowania UV na skórę  
w wybranych modelach mysich.**

Zgodnie z art. 16 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz stopnia i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami (Dz. U. z 2014 r. poz. 1852) oraz zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. (Dz. U. z 2011 nr 196 poz. 1165) przedstawiam ocenę osiągnięcia naukowego, dorobku naukowego oraz innych osiągnięć **dr Agnieszki Wolnickiej-Głubisz**.

**1) Sylwetka kandydata**

W roku 1997 dr Agnieszka Wolnickiej-Głubisz obroniła pracę magisterską pt. „Zastosowanie morfometrycznych metod cytometrii obrazu w diagnostyce nowotworowych zmian trzustki”, którą wykonała pod kierunkiem Prof. dr hab. Włodzimierza Korohoda, w Zakładzie Biologii Komórki, na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Następnie, w roku 2002, uzyskała tytuł doktora nauk biologicznych (specjalność biofizyka) na podstawie rozprawy zatytułowanej: „Porównanie fotoreaktywności oraz fototoksyczności 8-MOP, CPZ, TMA w przypadku układów modelowych i limfocyt w warunkach *in vitro*”. Praca została wykonana pod opieką kierunkiem Prof. dr hab. Tadeusz Sarny (Zakład

Biofizyki, Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków). Od 2006 roku zatrudniona jest na stanowisku adiunkta w/w jednostce.

Należy podkreślić, że na bardzo dynamiczny rozwój kariery naukowej habilitantki wpłynął szereg krótkotrwałych (3-6 miesięcy) staży zagranicznych oraz dwu i pół letni staż po doktoracie. Miała ona okazję pracować w międzynarodowych zespołach badawczych na Uniwersytecie w Leiden, czy Uniwersytecie Medycznym w Wiedniu, co z pewnością wpływało nie tylko na rozwój warsztatu badawczego, ale również wzbogaciło jej dorobek publikacyjny. Natomiast wyjazd na staż po doktoracie do laboratorium Prof. Frances Noonan (Uniwersytet George'a Washington'a, Waszyngton, Stany Zjednoczone) zaowocował podjęciem nowej tematyki badawczej, która stała się podstawą przedstawiona do oceny osiągnięcia naukowego.

### 1) Ocena osiągnięcia naukowego

W skład osiągnięcia naukowego wchodzi sześć publikacji naukowych o łącznym współczynniku oddziaływania IF= **18,98** (185 punktów według MNiSW). Dr Agnieszka Wolnicka-Glubisz jest pierwszym autorem wszystkich prac ujętych w cyklu oraz autorem korespondencyjnym czterech z nich. Warto podkreślić, że prace te ukazały się w renomowanych czasopismach międzynarodowych w tym: *Journal of Leukocyte Biology* czy *Experimental Dermatology*, *PLOS One*, czy *Interantional Journal of Cancer*, co podkreśla dużą wartość poznawczą prezentowanych rezultatów. Na wysoką wartość naukową tych prac wskazuje również spora liczba cytacji (średnio 8 cytacji na publikację, z tym, że ostatnia z nich ukazała się w bieżącym roku). Warto pokreślić, że Prof. Noonan, mentorka habilitantki ze Stanów Zjednoczonych, jest współautorką 4 publikacji będących podstawą osiągnięć. Świadczy to o długoletniej i bardzo owocnej współpracy dr Wolnickiej-Glubisz z wiodącym, zagranicznym ośrodkiem naukowym oraz o skutecznym przeniesieniu tematyki badań do Polski.

Chciałbym podkreślić, że omawiane publikacje zostały już zweryfikowane pod względem technicznym i merytorycznym przez międzynarodowe grono recenzentów i opublikowane w czasopismach o znaczącym współczynniku oddziaływania (ang. Impact Factor), tak więc w swojej opinii postaram ustosunkować się jedynie całościowo do przedstawionego dorobku składającego się na osiągnięcie naukowe.

W skład cykl publikacji wchodzi cztery prac doświadczalne oraz dwa artykuł przeglądowy. Wszystkie prace dotyczą wpływu promieniowania ultrafioletowego, układu immunologicznego na rozwój czerniaka na modelach mysich. Tak, więc uważam, że prace składające się na osiągnięcie naukowe przedstawione do oceny stanowią spójny tematycznie cykl, co jest zgodne z wymaganiami ustawowymi.

Czerniak, należy do jednych z najgroźniejszych nowotworów u człowieka. I chociaż częstość jego występowania nie jest zbyt wielka, to ciągła zwiększająca się ilość nowych przypadków, bardzo duży potencjał do tworzenia przerzutów oraz brak skutecznej terapii

powoduje, że nowotwór ten budzi szczególne zainteresowanie wśród naukowców i lekarzy. Wydaje się, że zaburzenia w działaniu układu immunologicznego są jednym z głównych elementów sprzyjających rozwojowi wielu nowotworów, w tym czerniaka, natomiast nie wiele jeszcze wiemy na temat tego procesu.

**Do najważniejszych osiągnięć habilitantki należy zaliczyć:**

a. Wykazanie, że u noworodków mysich naświetlanie promieniowaniem UV, nie powoduje indukcji odpowiedzi immunologicznej, tak jak to ma miejsce u osobników dorosłych. Może to prowadzić do upośledzenia odpowiedzi immunologicznej w późniejszym wieku, co mogłoby wpływać na obniżoną wrażliwość komórek układu odpornościowego na zmienionych nowotworowo melanocyty i prowadzić do rozwoju czerniaka. Przedstawione wyniki wydają się potwierdzać tę hipotezę.

b. Wykazanie, że receptor Mc1r jest niezbędny do utrzymania puli melanocytów poza mieszkami włosowymi u myszy, a jego obecność dodatkowo warunkuje rozwój czerniaka u myszy transgenicznych HGF, chociaż nie wpływa na indukcję stanu zapalnego w skórze zwierząt naświetlanych promieniowaniem UV. Wyniki te wskazują również roli melanogenezą w rozwoju czerniaka.

c. Wykazanie, że na modelu mysim C57BL/6-HGF zwiększona produkcja feomelaniny nie wpływa na rozwój indukowanych przez UVA czerniaków. Wydaje się również, że przynajmniej na tym modelu zwierzęcym obecność eumelaniny warunkuje indukcję procesu nowotworzenia. Wydaje się, być to dość intrygująca obserwacja, ponieważ u ludzi występowanie melanomy jest powiązane z promieniowaniem UVB oraz silnie koreluje z fenotypem 1 skóry (skóra bardzo jasna, rude włosy, piegi wskazujące na przewagę feomelaniny). Być może jest to związane ze specyfiką modelu badawczego (melanocyty w skórze właściwej oraz brak melanoforów w keratynocytach), który wpłynął na uzyskane wyniki. Dalsze badania dr Wolnicka-Glubisz z pewnością wyjaśnią te rozbieżności.

Należy podkreślić, że habilitantka stworzyła bardzo interesujący model badawczy, dzięki któremu możliwe było zbadanie wpływ odpowiedzi immunologicznej oraz procesu immunotolerancji na rozwój czerniaków indukowanych promieniowaniem ultrafioletowym. Należy podkreślić umiejętne dobranie myszy transgenicznych HGF/SF, u których dochodzi między innymi do nadprodukcji czynnika wzrostu hepatocytów (HGF). Warto wspomnieć, że skóra myszy nie jest najlepszym modelem do badań nad ludzkim czerniakiem, gdyż w odróżnieniu do ludzkiej skóry, u myszy melanocyty występują jedynie w mieszkach włosowych, a nie ma ich w naskórku. Jednak w odróżnieniu do myszy typu dzikiego, u myszy transgenicznych HGF/SF melanocyty mieszkowe mają zdolność do migracji do warstwy brodawkowej skóry właściwej. Model ten nieco różni się od skóry ludzkiej, dlatego, że u człowieka melanocyty pozamieszkowe, znajdują się głównie w warstwie podstawnej naskórka. Habilitantka, również z dużym powodzeniem zastosowała szczepy myszy pozbawionych funkcjonalnego receptora dla melanokortyny

(C57BL/6-Mc1r<sup>ee</sup>, C57BL/6-Mc1r<sup>el+</sup> oraz kontrolny szczep dziki C57BL/6-Mc1r<sup>+/+</sup>). Z przedstawionych do oceny publikacji należy wnioskować, że habilitantka świetnie posługuje się technikami biologii molekularnej (cytometria przepływowa, immunohistochemia i immunocytochemia, mikroskopia świetlna i fluorescencyjna, czy techniką western blot). Dodatkowo świetnie wykorzystwała transmisyjną mikroskopię elektronową (TEM) do wizualizacji melanosomów, oraz spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) do oznaczenia ilości eumelaniny i feomelaniny w badanym materiale.

Należy podkreślić, że autorka w zdecydowanej większości prezentowanych prac sama zaprojektowała doświadczenia. Wyjątkiem jest praca 6 (Wolnicka-Głubisz et al. 2015), gdzie jednak również brała udział w planowaniu doświadczeń. Co więcej, habilitantka samodzielnie wykonała przewidziane doświadczenia, dokonała analizy uzyskanych rezultatów, przygotowała rysunki oraz napisała manuskrypty przedstawionych do oceny prac. Swój udział w powstawaniu prac określiła na 60-90%, a jej zaangażowanie w prezentowane projekty badawcze zostało również potwierdzone przez współautorów w odpowiednich oświadczeniach. O samodzielności naukowej świadczy również fakt, że jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnych 4 z 6 prac włączonych do cyklu.

Na zakończenie chciałbym jeszcze odnieść się do autoreferat, który w mojej opinii stanowi dobre wprowadzenie do tematyki badawczej będącej podstawą rozprawy habilitacyjnej. Na szczególną uwagę zasługują tabelę, bez których zrozumienie uzyskanych wyników oraz omawianych zależności było by trudne. Natomiast wydaje się, że autoreferat mógłby być nieco staranniej zredagowany. Szczególnie, dotyczy to powszechnie stosowanie spolszczonej nomenklatury biologicznej oraz niezamierzonych błędów (strona 4, drugi akapit, „... obserwuje się niedobory całkowitej zawartości ozonu w okresie wiosna-lato, między październikiem, a grudniem...”). Pewien niedosyt powoduje fakt, że artykuły przeglądowe ukazały się przed artykułami doświadczalnymi i opisują stan wiedzy z lat 2006-2007, a więc nie uwzględniają znaczących odkryć dokonanych przez habilitantkę. Warto podkreślić, że obecność nielicznych błędów nie wpływa na wysoką ocenę przedstawionej do oceny rozprawy habilitacyjnej.

Podsumowując, przedstawiony do oceny cykl sześciu prac naukowych stanowi w ujęciu ustawowym dobrze zdefiniowane osiągnięcie naukowe. Należy podkreślić, że uzyskane wyniki mają nie tylko bardzo dużą wartość poznawczą, gdyż opisują wpływ odpowiedzi immunologicznej oraz pigmentacji na powstawanie czerniaka indukowanego przez promieniowanie ultrafioletowe, ale również może mieć potencjalne znaczenie kliniczne.

## **2) Ocena pozostałego dorobku naukowego**

Oprócz sześciu prac stanowiących osiągnięcie naukowe, dr Agnieszki Wolnickiej-Głubisz jest autorką jeszcze 16 prac opublikowanych w czasopiśmie z bazy Journal Citation

Reports, w tym dwie z tych prac ukazały się jeszcze przed doktoratem. Dorobek habilitantki dopełniają dwie monografie, 23 doniesienia zjazdowe oraz pięć wygłoszonych referatów. Na rozwój naukowy dr Agnieszki Wolnickiej-Głubisz wpłynęła współpraca z szeregiem osobistości świata nauki. U Prof. dr hab. Włodzimierza Korohoda, oraz pod kierunkiem Prof. dr hab. Tadeusza Sarny habilitantka uczyła się podstawowych technik laboratoryjnych prowadząc badania nad wpływem różnych substancji drobnocząsteczkowych (np. 8-metoksypsolarenu, chloropromazyny czy selenitu) na wzrost oraz indukcję śmierci komórek nowotworowych.

Jednak główna część dorobek naukowego dr Agnieszki Wolnickiej-Głubisz powstała przy współpracy z Profesorem Frances Noonan ze Stanów Zjednoczonych, u której przebywała na stażu po doktoracie. Należy podkreślić, że współpraca ta jest kontynuowana, czego efektem jest przedstawiona do oceny rozprawa habilitacyjna. Wydaje się, że habilitantka ma dużą zdolność do nawiązywania długoletnich i bardzo owocnych kontaktów naukowych. Dzięki współpracy z Prof. Sarną, dr hab. Przemysławem Płonką (Uniwersytet Jagielloński) oraz Prof. Noonan, stworzyła unikatowy warsztat badawczy, który umożliwił jej zbadanie szeregu czynników wpływających na rozwój czerniaków w tym: pigmentacji, promieniowania ultrafioletowego, odpowiedzi immunologicznej oraz wieku. Należy jednak tutaj dodać, że dr Agnieszki Wolnickiej-Głubisz samodzielnie zaplanowała oraz wykonywała większość doświadczeń opisanych w jej dorobku naukowym. Samodzielność naukową habilitantki potwierdza również fakt, że jest ona kierownikiem dwóch projektów badawczych (jednego zakończonego) oraz pełniła rolę wykonawcy w czterech innych.

Bardzo istotny jest również fakt, że habilitantka świetnie wykorzystuje wiedzę, umiejętności oraz warsztat metodyczny zdobyty w za granicą, łącząc go doskonale unikatową metodyką dostępną na Uniwersytecie Jagiellońskim. Warto tu wspomnieć np. o wykorzystaniu techniki EPR do pomiarów ilościowych eumelaniny i foemelaniny w skórze zwierząt transgenicznych.

Podsumowując, łączyny dorobek dr Agnieszki Wolnickiej-Głubisz to 22 publikacji, w tym 2 przed doktoratem, o łącznym współczynniku oddziaływania  $IF=67$ . Należy podkreślić, że zdecydowana większość prac jest dobrze cytowana (łącznie: 261 cytowań według bazy Scopus, w tym 229 bez autocytacji; stan na dzień 22.04.2015), co wpływa znacząco na wysoki indeks Hirsch  $h=10$ . Uważam, więc, że przedstawiony do oceny całkowity dorobek naukowy dr Agnieszki Wolnickiej-Głubisz jest w pełni wystarczający do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

### **3) Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej oraz współpracy międzynarodowej.**

Zgodnie z wymaganiami ustawy samodzielny pracownik nauki musi wykazać się również w działalność pozanaukową, ze szczególnym uwzględnieniem dydaktyki. Dr Agnieszki

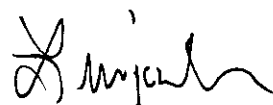
Wolnickiej-Głubisz w trakcie całej swojej kariery zawodowej aktywnie uczestniczyła w procesie dydaktycznym, prowadząc kursy: „Biofizyka”, „Fotobiologia i Fotomedycyna”, „Między fizyką, a biologią” przygotowane dla studentów Biofizyki, Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Warto nadmienić, że kurs „Nowoczesne Metody biologii na poziomie molekularnym”, habilitantka prowadzi w języku polskim i angielskim, natomiast zaawansowany kurs biofizyki dla doktorantów w języku angielskim. Na szczególną uwagę zasługuje, fakt, że dr Wolnickiej-Głubisz od roku 2006 prowadzi autorski kurs pt. „Fotobiologia skóry”. Co więcej, kurs ten został rozszerzony w roku 2009 o ćwiczenia, dzięki uzyskanym funduszom z programu rektora UJ, *Ars Docenti*. Dr Wolnickiej-Głubisz była również opiekunem naukowym siedmiu prac magisterskich oraz 3 licencjatów. Od 2012 roku pełni funkcję opiekuna roku IV i V Biofizyki (UJ).

Na zakończenie warto również wspomnieć, że dr Wolnickiej-Głubisz była recenzentką projektu badawczego złożonego do NCN oraz wykonała recenzje manuskryptów dla kilku czasopism krajowych i zagranicznych (łącznie 5 recenzji). Habilitantka była również aktywnym członkiem - Society For Photobiology, European Society for Pigment Cell Research oraz European Society for Photobiology.

Podsumowując uważam, że habilitantka wykazała się dużą kreatywnością w działalności pozanaukowej, świetnie wykorzystuje szeroką współpracę krajową i zagraniczną oraz umiejętnie i skutecznie zdobywa finansowanie dla swoich projektów zarówno badawczych, jak i dydaktycznych, a więc jest świetną kandydatką na samodzielnego pracownika nauki.

#### 4) Konkluzja

Na podstawie przedstawionych mi materiałów uważam, że osiągnięcia naukowe będące podstawą wniosku, całkowity dorobek naukowy dr Agnieszka Wolnickiej-Głubisz, jak również jej osiągnięcia w działalności dydaktycznej oraz organizacyjne spełniają wszelkie wymogi ustawowe ((Dz. U. z 2003 r., nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) oraz (Dz. U. z 2011 nr 196 poz. 1165)). **Pozwalam sobie przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie dr Agnieszka Wolnickiej-Głubisz do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.**



dr hab. Michał Żmijewski, Prof. GUMed