

Poznań 25.03.2014

Prof. dr hab. Anna Goździcka-Józefiak
Zakład Wirusologii Molekularnej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
w Poznaniu

Ocena

osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowo-dydaktycznego dr Małgorzaty Krzyżowskiej

Oceny dokonałam opierając się na przesłanej mi przez Panią prof. dr hab. Irinę Kowalską – Dziekana Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku dokumentacji, która zawierała:

- 1) autoreferat, w którym dr Małgorzata Krzyżowska przedstawiła zwięzły opis osiągnięcia naukowego oraz pozostałych osiągnięć naukowych,
- 2) kopie prac stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitantki,
- 3) wykaz i kopie innych prac nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego,
- 4) wykaz projektów badawczych, w realizacji których Habilitantka brała udział,
- 5) wykaz nagród otrzymanych za działalność naukową,
- 6) wykaz referatów prezentowanych na zjazdach krajowych i międzynarodowych,
- 7) informacje o osiągnięciach dydaktycznych/współpracy z instytucjami i towarzystwami naukowymi,
- 8) wykaz staży naukowych,
- 9) analizę bibliometryczną publikacji autorstwa dr Małgorzaty Krzyżowskiej,
- 10) kopię pisma z Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów o powołaniu mnie na recenzenta.

Po dokładnym zapoznaniu się z dokumentacją, ustaliłam co następuje.

Doktor Małgorzata Krzyżowska jest absolwentką Wydziału Biologii o specjalności biologia molekularna Uniwersytetu Warszawskiego z 1997 roku. W tym samym roku rozpoczęła pracę w Zakładzie Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego w Warszawie. W latach 1998-2002 dr Małgorzata

Krzyżowska odbyła studia doktoranckie w Katedrze Nauk Przedklinicznych, na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Studia te zakończyła obroną pracy doktorskiej „Zróżnicowanie molekularnych szlaków apoptozy w produktywnym zakażeniu wirusem ektromelli: badania in vitro i in vivo” w lipcu 2002 roku. Promotorem rozprawy doktorskiej dr Małgorzaty Krzyżowskiej był Pan prof. dr hab. Marek Niemiałtowski.

W latach 2002-2003 Habilitantka przebywała na stażu podoktorskim w Svenska Institutet Individual Scholarship, w Microbiology and Tumor Biology Center, Karolinska Institutet w Sztokholmie w Szwecji, natomiast w latach 2003-2012 była zatrudniona w Katedrze Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie na stanowisku adiunkta.

W latach 2007-2011 dr M. Krzyżowska odbyła kilka staży zagranicznych : w latach 2007-2008 prowadziła badania naukowe jako stypendystka (Visby Scholarship) w Swedish Institute for Infectious Disease Control and Karolinska Institutet w Sztokholmie, natomiast w latach 2008-2010 – w Department of Microbiology, Tumors and Cell Biology, Karolinska Institutet w Sztokholmie jako stypendystka Marie Curie Intra-European Fellowships for career development. W roku 2011 Habilitantka przebywała na jednomiesięcznym stypendium European Federation of Immunological Societies w Department de Biologie Cellulaire et Interactions Hotes-Pathogenes, Instytut Cochin, INSERM U1016 w Paryżu.

Od 1.12.2012 dr Małgorzata Krzyżowska jest zatrudniona w Zakładzie Medycyny Regeneracyjnej Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Warszawie. Od początku działalności naukowej zainteresowania naukowe dr M. Krzyżowskiej koncentrują się przede wszystkim na badaniu mechanizmów molekularnych apoptozy w komórkach zakażonych wirusem. Wyniki swoich badań opublikowała w czasopismach o szerokim zasięgu międzynarodowym. Część wyników tych badań dr Małgorzata Krzyżowska przedstawiła jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Osiągnięcie naukowe dr Małgorzaty Krzyżowskiej

Wyniki badań składające się na osiągnięcie naukowe dr Małgorzaty Krzyżowskiej, za tytułowane „Rola receptorowego szlaku apoptozy Fas/FasL w regulacji zmian zapalnych błony śluzowej pochwy obserwowanych w zakażeniu HSV 2”, przedstawione są w czterech monograficznych publikacjach:

1. Krzyżowska M., Shestakov E., Ericsson K., Chiodi F., 2011, Role of Fas/FasL in regulation of inflammation in vaginal tissue during HSV-2 infection. *Cell Death Dis.* 2. 1-12, IF:5,333;
2. Krzyżowska M., Bańska P., Grochowska A., Orłowski P., Nowak Z., Winnicka A., 2014, Fas/FasL pathway participates in resolution of mucosal inflammatory response during HSV-2 infection. *Immunobiology*, 219, 64-77, IF:2,814;
3. Krzyżowska M., Bańska P., Orłowski P., Zdanowski R., Winnicka A., Ericsson K., Stankiewicz W., 2013, HSV-2 Regulates Monocyte Inflammatory Response via the Fas/FasL Pathway. *PLoS One*, 8:e70308, IF:3,73;
4. Krzyżowska M., Winnicka A., Stankiewicz W., 2013, HSV-2 infected monocytes and keratinocytes show different inflammatory reaction in response to Fas receptor stimulation. *Centr. Eur. J. Immunol.* 38, 196-202, IF:0,378.

Prace te są wynikiem starannie zaplanowanych i konsekwentnie realizowanych badań, z wykorzystaniem najnowszych technik badawczych. Każda z tych publikacji wnosi nowe

dane naukowe, pozwalające na lepsze poznanie roli receptora Fas/FasL w indukcji apoptozy, w komórkach zakażonych wirusem.

Udział Habilitantki w poszczególnych pracach został oszacowany przez Kandydatkę i potwierdzony przez ich współautorów na około 80%. Doktor Małgorzata Krzyżowska była odpowiedzialna za opracowanie koncepcji pracy, planowanie doświadczeń i wykonanie głównej części badań oraz opracowanie i interpretację wyników podczas przygotowywania manuskryptu pracy do druku.

Badania Habilitantka rozpoczęła *in vitro* z użyciem ustalonej mysiej linii komórkowej keratynocytów 291.03C oraz ustalonej mysiej linii nabłonkowej Hepa 1-6. Wykazały one, że zakażenia HSV-2 prowadziły do indukcji apoptozy jedynie w około 40% zakażonych wirusem komórek w obu liniach komórkowych. Towarzyszył temu wzrost ekspresji receptora Fas/FasL, antyapoptycznego białka Bcl-2 oraz wzrost aktywności czynnika transkrypcyjnego NF-kB i kinazy PI3-K/Akt. Habilitantka stwierdziła także, że niezakażone komórki HSV-2 w ko-hodowli zwiększają ekspresję Fas i są wrażliwe na indukcję apoptozy zależną od Fas. Odsetek komórek niezakażonych ulegających apoptozie był w sposób istotny statystycznie niższy dla myszy szczepów pozbawionych Fas i FasL w porównaniu ze szczepem dzikim.

Na podstawie wyników tych badań dr M. Krzyżowska zaproponowała model sugerujący rolę Fas/FasL w ograniczeniu stanu zapalnego, otaczającego ognisko zakażenia, zakażonych HSV komórek nabłonka (Krzyżowska i wsp. *Cell Heath and Disease* 2011). W toku dalszych badań dr M. Krzyżowska, prowadząc badania na komórkach pochwy myszy zakażonych HSV-1, potwierdziła rolę receptora Fas/FasL w kontroli miejscowej odpowiedzi zapalnej oraz wskazała na aktywację mitochondrialnej drogi apoptozy podczas reakcji zapalnej (Krzyżowska i wsp. *Immunobiology* 2014).

Z kolei, badania Habilitantki na monocytach pochwy myszy zakażonych HSV 2 wykazały, że brak w komórce receptora Fas/FasL prowadzi do spadku apoptozy i nacieku komórek NK oraz limfocytów T CD4 i CD do miejsca zakażenia. Potwierdzało to sugestie, że droga Fas/FasL w monocytach zakażonych HSV- 2 reguluje nie tylko proces apoptozy, ale także kontroluje ich odpowiedź immunologiczną (Krzyżowska i wsp. *PLOS One* 2013). Odpowiedź komórek zakażonych wirusem HSV-2 różni się po stymulacji receptora Fas w zależności od typu komórki. Doktor M. Krzyżowska wykazała to badając ekspresję prozapalnych chemokin i cytokin w komórkach różnych typów (Krzyżowska i wsp. *Experimental Immunology* 2013).

Reasumując, dr Małgorzata Krzyżowska wykazała, że w komórkach zakażonych HSV-2 indukowana jest apoptoza zależna od Fas/FasL, jak również szlaku mitochondrialnego w zależności od typu komórki. Komórki nabłonkowe zakażone HSV 2 chronią się przed apoptozą indukując syntezę antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 na wczesnym etapie zakażenia. Droga apoptozy Fas/FasL jest także jednym ze sposobów eliminacji komórek zawartych w naciekach zapalnych błony śluzowej pochwy zakażonej HSV-2. Z kolei, apoptoza monocytów z udziałem receptora Fas prowadzi do syntezy chemokin i cytokin biorących udział w aktywacji swoistej odpowiedzi przeciwwirusowej. Na podkreślenie zasługuje fakt, że są to jedne z pierwszy doniesień tego typu w literaturze przedmiotu i stanowią oryginalne osiągnięcie naukowe Habilitantki.

Wyniki tych interesujących badań dr M. Krzyżowska opublikowała w znaczących czasopismach przedmiotu. Ich współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 12.25.

Osiągnięcie naukowe dr Małgorzaty Krzyżowskiej oceniam bardzo wysoko.

Wyniki badań Habilitantki wnoszą liczne nowe dane odnośnie mechanizmów Fas/FasL zależnej drogi apoptozy w komórkach zakażonych wirusem.

Dorobek naukowy dr Małgorzaty Krzyżowskiej

Doktor Małgorzata Krzyżowska jest autorką 37 publikacji naukowych (w tym 3 przedstawionych jako osiągnięcie naukowe) oraz 27 doniesień naukowych, prezentowanych na zjazdach krajowych i międzynarodowych. 19 publikacji stanowi oryginalne prace eksperymentalne, pozostałe 10 są to prace pogładowe. W 19 publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem, co wskazuje na Jej istotny udział w powstaniu tych publikacji, co w stosownych oświadczeniach potwierdzają współautorzy publikacji. 33 prace dr M. Krzyżowska opublikowała po uzyskaniu stopnia doktora.

Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) dla wszystkich publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports wynosi 50,646. Odpowiada to według listy MNIŚW 464 punktom.

Prace dr Małgorzaty Krzyżowskiej były cytowane 126 razy, a H-indeks wynosi 4. Badania naukowe Habilitantki, jak wspomniałam wcześniej, koncentrują się głównie na:

- analizie szlaków apoptotycznych uruchamianych w odpowiedzi na zakażenie komórek wirusem (Krzyżowska i wsp. *Microb. Infec.* 2002; Krzyżowska i wsp. *Virus Res.* 2006; Krzyżowska i wsp. *J. Gen. Virol.* 2005) oraz na roli apoptozy indukowanej na drodze szlaku Fas/FasL w patogenezie lokalnego zakażenia wirusowego;

- odporności immunologicznej myszy immunizowanych za pomocą wirusa ospy myszowej (VACV) i eksponowanych w dzieciństwie na VACV na letalne zakażenia ortopoksywirusem (Navarini A., Krzyżowska i wsp. *Eur. J. Immunol.* 2009).

Doktor M. Krzyżowska wykazała, że przeciwciała matczyne, jak również wczesna ekspozycja na zakażenie stanowi najlepszą ochronę przed zakażeniem w wieku późniejszym tym wirusem.

Badania naukowe dr Małgorzata Krzyżowska prowadziła także w celu wyjaśnienia roli lipoarabinomannanu w regulacji apoptozy oraz stanu zapalnego w zakażeniach prątkami gruźlicy – *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tuberculosis* i *M. tuberculosis bovis*). W badaniach tych Habilitantka skupiła się na porównaniu szlaków pro- i antyapoptotycznych uruchamianych w makrofagach pod wpływem mannozylowanego lipoarabinomannanu (mamLAM) w zakażeniu szczepami prątków patogennych i niepatogennych (Wojtaś i wsp. *Microb. Pathog.* 2011; Krzyżowska i wsp. *Pol. J. Microbiol.* 2008; Krzyżowska i wsp. *Pol. J. Microbiol.* 2007).

Wyniki tych badań wykazały, że mamLAM chroni monocyty przed apoptozą wpływając na spadek ekspresji wybranych genów białek proapoptotycznych (kaspaz 1,3,7 i 9, TNF- α , Fas-i bax), prozapalnych (IL-12, p35) oraz stabilizując ekspresję białek antyapoptotycznych: Bcl-2 i Mcl-1. Ponadto, mamLAM powoduje supresję apoptozy i reakcji zapalnej w komórkach sąsiadujących, niezakażonych prątkami.

Z innych prac prowadzonych przez dr M. Krzyżowską należy wymienić badania nad ekspresją białek szoku termicznego (Hsp-27, hsp-70, hsp-90) i apoptozą w makrofagach podczas zakażenia wirusem ospy.

Szeroka współpraca naukowa dr M. Krzyżowskiej z innymi badaczami zaowocowała licznymi wspólnymi pracami opublikowanymi między innymi w takich czasopismach, jak *Exp. Parasitol.*, 2013, *Cent. Eur. J. Immunol.*, *Pol. J. Vet. Sci.* 2012, czy *AIDS* 2005.

Wśród najnowszych publikacji dr M. Krzyżowskiej odnotowałam prace poświęcone nanocząstkom i ich wpływie na komórki zakażone wirusem oraz indukcję stanu zapalnego (Orłowski i wsp. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2012, Orłowski i wsp. *Toxicol. In Vitro.* 2013). Wyniki tych badań mogą znaleźć zastosowanie praktyczne w walce z zakażeniami wirusowymi.

Analizując dorobek naukowy Kandydatki, pragnę podkreślić wysoki poziom naukowy Jej publikacji, znajomość i umiejętność stosowania w badaniach najnowszych technik biologii molekularnej, wirusologii i immunologii oraz konsekwencję w dążeniu do rozwiązywania i wyjaśniania wytyczonych celów badawczych. Na wysoką jakość publikacji Habilitantki

znacząco wpływa Jej umiejętność nawiązywania kontaktów naukowych i realizowania wspólnych badań z innymi placówkami badawczymi zarówno w kraju, jak i za granicą.

Na uwagę zasługują również prace poglądowe Kandydatki, poświęcone: roli kinaz w odpowiedzi immunologicznej, autofagi w zakażeniach wirusowych, roli tlenu azotu w apoptozie, supresji apoptozy w zakażeniach wirusowych, opublikowane w *Postęпах Biologii Komórki*, jak również cykl prac poświęconych apoptozie, które ukazały się w *Życiu Weterynaryjnym*. Przyczyniają się one do znakomitej popularyzacji nauki.

Doktor M. Krzyżowska wyniki swoich badań prezentowała także na licznych konferencjach naukowych (4 zagranicznych i 23 krajowych).

W roku 2011 dr M. Krzyżowska za doniesienie naukowe prezentowane na Kongresie Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej w Gdańsku otrzymała nagrodę tegoż Towarzystwa.

Dorobek organizacyjny i dydaktyczny

Doktor Małgorzata Krzyżowska wykazuje się dużymi umiejętnościami w pozyskiwaniu środków finansowych na prowadzone badania. Dotychczas były one realizowane w ramach 11 grantów otrzymanych z różnych źródeł (MNiSW, NCN, Fundacji Marie Curie, European Reintegration Grant, grant wewnętrzny SGGW w Warszawie). Habilitantka była kierownikiem pięciu z nich, w pięciu – wykonawcą, natomiast jednego – opiekunem naukowym.

Doktor Małgorzata Krzyżowska uczestniczy także aktywnie w pracy dydaktycznej; była kierownikiem 20 prac magisterskich i 16 licencjackich. Analizując tematykę prac magisterskich, jak również licencjackich stwierdzam, że Kandydatka potrafi zainteresować studentów tematyką swoich badań i włączyć ich do współpracy. Jest to bardzo ważna cecha młodego samodzielnego pracownika nauki.

W latach 2003-2007 oraz 2010-2012 dr M. Krzyżowska brała aktywny udział w opracowaniu programów dydaktycznych oraz w zajęciach z:

- Mikrobiologii weterynaryjnej na Międzywydziałowym Studium Biotechnologii Wydziału Rolnictwa i Biologii oraz
- z immunologii i wirusologii dla Międzywydziałowego Studium Biotechnologii Wydziału Rolnictwa i Biologii.

Prowadziła także zajęcia fakultatywne z:

- Mechanizmów homeostazy, komórek eukariotycznych,
- Molekularnych podstaw odpowiedzi immunologicznej oraz
- „Niewidzialni wrogowie” na Wydziale Rolnictwa i Biologii.

W ramach popularyzacji nauki Habilitantka przygotowała i prowadziła lekcje na Festiwalu Nauki w latach 2005-2007 („Dlaczego nie wszystkie bakterie są pożyteczne”, warsztat w ramach „Nocy Badaczy”, „Wielkie oczy strachu, czyli badamy niewidzialnych wrogów”).

W roku 2011 działalność organizacyjna dr M. Krzyżowskiej została nagrodzona nagrodą zespołową Rektora SGGW w Warszawie.

Habilitantka jest członkiem polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej.

Wniosek końcowy

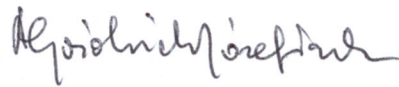
Po zapoznaniu się z osiągnięciami naukowym Pani dr Małgorzaty Krzyżowskiej, całokształtem Jej dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego stwierdzam, że dorobek

ten jest bardzo bogaty i wartościowy, i w pełni potwierdza dojrzałość naukową Habilitantki do stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Uważam, że Kandydatka jest bardzo dobrze przygotowana do samodzielnej pracy naukowej, jak i kierowania zespołem badawczym.

W mojej ocenie, dr Małgorzata Krzyżowska spełnia wszystkie kryteria określone w Ustawie z 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (DzU nr 65, poz. 595) oraz w Rozporządzeniu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego z 1 września 2011 roku.

W związku z powyższym, przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o nadanie Pani dr Małgorzacie Krzyżowskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w zakresie biologii medycznej.



Prof. zw. dr hab. Anna Goździcka-Józefiak