



UNIwersytet Jagielloński
w Krakowie

Prof. dr hab. Elżbieta Kołaczowska
Zakład Hematologii Eksperymentalnej
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
☎ (+48-12) 664-50-65
E-mail: ela.kolaczowska@uj.edu.pl

Kraków, 26 września 2023 r.

OCENA

osiągnięcia naukowego p.t.:

”Białka i lipidy błonowe jako regulatory odpowiedzi zapalnej indukowanej w makrofagach przez lipopolisacharyd bakteryjny”

oraz dorobku naukowego, działalności dydaktycznej i organizacyjnej
dr inż. Anny Ciesielskiej w związku z wszczęciem przewodu habilitacyjnego przez
Radę Doskonałości Naukowej prowadzonego przez Radę Naukową Instytutu
Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

I. Podstawa prawna i ocena formalna

Recenzja została opracowana na podstawie wytycznych zawartych w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” art. 219 (Dz. U. z 2023 r. poz. 742). Otrzymane materiały zostały przygotowane przejrzysto i w sposób umożliwiający właściwą i pełną ocenę oraz zapoznanie się z istotą osiągnięcia naukowego stanowiącego rozprawę habilitacyjną, a także z całokształtem dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr inż. Anny Ciesielskiej.

II. Dane biograficzne i rozwój naukowy

Pani dr inż. Anna Ciesielska jest absolwentką Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej (BiNoŻ PŁ), gdzie w roku 2007 uzyskała tytuł zawodowy magistra inżyniera w zakresie biotechnologii molekularnej i biochemii technicznej. Po ukończeniu tego etapu kształcenia podjęła studia doktoranckie, a stopień naukowy doktora nauk technicznych uzyskała na macierzystym Wydziale PŁ w roku 2013 na podstawie rozprawy doktorskiej: *„Aktywność przeciwnowotworowa tiofosforanowych i ditiofosforanowych analogów*

cyklicznego kwasu fosfatydowego wobec ludzkich komórek raka prostaty”. W okresie studiów doktoranckich dr inż. Ciesielska odbyła roczny staż na Uniwersytecie Strathclyde (Glasgow, Wielka Brytania). Po uzyskaniu stopnia doktora przez trzy miesiące była zatrudniona jako biochemik w Instytucie Biochemii Technicznej BiNoŻ PŁ, a następnie (do chwili obecnej) w Pracowni Biologii Molekularnej Błony Komórkowej w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie. Początkowo Pani Ciesielska była zatrudniona jako specjalista, a od roku 2021 na stanowisku adiunkta. Przez trzy pierwsze lata zatrudnienia jako specjalista, dr inż. Ciesielska realizowała grant podoktorski Fuga-2. Zatem w chwili oceny osiągnięć kandydatki, upłynęło 10 lat od uzyskania stopnia doktora i 2 lata od zatrudnienia na stanowisku adiunkta.

Z okresu stażu w Wielkiej Brytanii kandydatka nie posiada publikacji naukowych (uzyskane wyniki były zaprezentowane w formie plakatu na międzynarodowej konferencji), natomiast posiada publikację z prof. dr hab. Marią Kozłowską z BiNoŻ PŁ, która ukazała się już po zakończeniu ich formalnej współpracy, po doktoracie. Zatem w stopniu podstawowym kandydatka spełnia wymóg wykazania się aktywnością naukową w innych ośrodkach naukowych niż miejsce zatrudniania, z którego ubiega się o stopień doktora habilitowanego.

Dr inż. Anna Ciesielska otrzymała nagrodę na rozprawę doktorską ufundowaną przez Polmos Żyrardów a wnioskowaną przez Kolegium Dziekańskie BiNoŻ PŁ. Ponadto otrzymała nagrodę zespołową za działalność naukowo-badawczą (cykl prac) przyznaną przez Wydział II Nauk Biologicznych i Rolniczych PAN.

III. Ocena cyklu publikacji będącego przedmiotem rozprawy habilitacyjnej p.t.: „*Białka i lipidy błonowe jako regulatory odpowiedzi zapalnej indukowanej w makrofagach przez lipopolisacharyd bakteryjny*”

Rozprawę habilitacyjną dr inż. Anny Ciesielskiej stanowi, wg załączonej dokumentacji, sześć wskazanych przez kandydatkę prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych indeksowanych przez *Journal Citation Report* o *Impact Factor* od 4,965 do 10,001 (5-letni IF). Cztery z tych prac to oryginalne artykuły o charakterze eksperymentalnym, a dwie to prace przeglądowe, które zostały opublikowane w latach 2015-2022.

Do rozprawy dołączono oświadczenia współautorów prac, a przy każdej zaznaczono rolę każdego z autorów, przy czym nigdzie nie odnalazłam informacji o procentowym wkładzie poszczególnych autorów, w tym zwłaszcza kandydatki, co jest powszechnie przyjętą konwencją umożliwiającą ocenę wkładu własnego w powstanie publikacji. W przypadku prac doświadczalnych w trzech (*Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2017, *J. Leukoc. Biol.* 2019, *Traffic* 2022)

udział dr inż. Ciesielskiej był wiodący, w czwartej z nich (*Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell. Biol. Lipids.* 2020), w której jest przedostatnim i korespondencyjnym autorem, wkład ten jest znacząco mniejszy. W przypadku tej ostatniej publikacji należy podkreślić, że dr inż. Ciesielska była promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej pierwszej autorki – dr Kamili Prymas, jednak publikacja ta nie weszła w skład jej pracy doktorskiej (została opublikowana po obronie), choć zawarte w niej wyniki znajdowały się w rozprawie. W przypadku prac przeglądowych, wiodący charakter kandydatki jasno wynika z przedstawionych informacji.

Osiągnięcie naukowe - sześć wskazanych przez Habilitantkę prac wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej posiada następujące wartości parametryczne:

- sumaryczny *Impact Factor* = **37,329**
- sumaryczna liczba punktów MEiN = **680**
- liczba cytowań = **284** (z tego 251 w przypadku pracy przeglądowej: *Cell Mol. Life Sci.* 2021)

W mojej ocenie sześć prac zgłoszonych jako osiągnięcie habilitacyjne **stanowi monotemtyczny cykl ciekawych, zawierających istotne elementy nowatorskie, prac badawczych opisujących wybrane aspekty interakcji lipopolisacharydu bakteryjnego (LPS) z receptorami CD14 i TLR4 (ang. *Toll-like receptor 4*) i ich wpływu na białka i lipidy błonowe.**

Naczelnym celem badań kandydatki jest poznanie/weryfikacja możliwości regulowania odpowiedzi zapalnej na LPS poprzez ingerencję w lipidowe otoczenie receptora TLR4 i białka pomocnicze, takie jak CD14. W szczególności, w cyklu prac składających się na osiągnięcie habilitacyjne, dr inż. Ciesielska postawiła sobie za **cel poszukiwanie nowych modulatorów aktywacji szlaków sygnałowych TLR4 (kwas lizobisfosfatydowy, BMP oraz kwas lizofosfatydowy, LPA), poznanie regulacji kaskad sygnałowych TLR4 przez środowisko błony komórkowej (rola sfingomielin) oraz poznanie mechanizmów odzyskiwania CD14 z endosomów (białka SNX).** A wspólnym wnioskiem końcowym/osiągnięciem wynikającym z przedstawionych prac jest **wykrycie nowych punktów regulacji odpowiedzi zapalnej uruchamianej przez lipopolisacharyd.**

Prace wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej zostały już pozytywnie ocenione przez specjalistów/recenzentów zaproszonych do recenzji przez 6 różnych redakcji indeksowanych, dobrych i bardzo dobrych czasopism, w których opublikowano wyniki. Publikacja wszystkich prac składających się na cykl w czasopismach z listy JCR wskazuje, że uzyskały one akceptację specjalistów, co stanowi świadectwo ich wartości poznawczych, warsztatu naukowego i aktualności podjętej tematyki. Stąd w mojej ocenie skoncentruję się

głównie na ocenie cyklu jako całości, podkreślając elementy nowatorskie, które znalazły się pracach. Ponieważ uważam, że Habilitantka prawidłowo przedstawiła cele, wyniki i wnioski prac składających się na rozprawę habilitacyjną, a sam opis uzyskanych kluczowych wyników jest bardzo szczegółowy i bardzo dobrze opracowany (w tym graficznie), nie będę powtarzać charakterystyki każdej z prezentowanych prac, a tylko przedstawię krótkie *resume* najważniejszych wyników.

Na cykl prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego składają się następujące artykuły:

- (1) Ciesielska A., Kwiatkowska K. "Modification of pro-inflammatory signaling by dietary components: The plasma membrane as a target" *Bioessays*. 2015, 37(7):789-801 – **praca przeglądowa** opisująca wpływ substancji zawartych w diecie (np. polifenoli, tokoferolu) na aktywację ścieżek sygnałowych receptorów TLR4 *via* błony komórkowe.
- (2) Ciesielska A., Sas-Nowosielska H., Kwiatkowska K. "Bis(monoacylglycero)phosphate inhibits TLR4-dependent RANTES production in macrophages" *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2017, 83:15-26 – **praca oryginalna** pokazująca zdolność BMP do hamowania ścieżki sygnałowej TLR4 zależnej od TRIF prowadzącej do zahamowania syntezy chemokiny RANTES.
- (3) Prymas K., Świątkowska A., Traczyk G., Ziemińska E., Dziewulska A., Ciesielska A.*, Kwiatkowska K. "Sphingomyelin synthase activity affects TRIF-dependent signaling of Toll-like receptor 4 in cells stimulated with lipopolysaccharide" *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell. Biol. Lipids*. 2020, 1865(2): 158549 – **praca oryginalna** dokumentująca rolę sfingomieliny w regulacji poziomu CD14 i szlaków sygnałowych TLR4 zależnych od TRIF.
- (4) Ciesielska A.*, Matyjek M., Kwiatkowska K. "TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling" *Cell Mol. Life Sci.* 2021, 78(4):1233-1261 – **praca przeglądowa** podsumowująca wyniki dotyczące mechanizmów uczestniczących w przekaznictwie sygnałowym LPS w kontekście literatury przedmiotu i badań własnych.
- (5) Ciesielska A., Hromada-Judycka A., Ziemińska E., Kwiatkowska K. "Lysophosphatidic acid up-regulates IL-10 production to inhibit TNF- α synthesis in M ϕ s stimulated with LPS" *J. Leukoc. Biol.* 2019, 106(6):1285-1301 – **praca oryginalna** przedstawiająca *cross talk* pomiędzy ścieżkami sygnałowymi receptorów rozpoznających LPA i receptorów TLR4 prowadzący do zahamowania odpowiedzi pro-zapalnej *via* IL-10.
- (6) Ciesielska A.*, Krawczyk M., Sas-Nowosielska H., Hromada-Judycka A., Kwiatkowska K. "CD14 recycling modulates LPS-induced inflammatory responses of murine macrophages." *Traffic* 2022, 23(6):310-330. – **praca oryginalna** wyjaśniająca mechanizmy utrzymania odpowiedniego poziomu CD14 w błonie komórkowej, w tym zaangażowanie białek SNX.

Należy zaznaczyć, że w 5 z 6 prac wchodzących w skład cyklu Habilitantka jest pierwszym autorem, a w 3 jest także autorem korespondencyjnym (*).

Do szczególnie ważnych i oryginalnych odkryć zawartych w rozprawie/osiągnięciu zaliczam:

- (i) wykazanie, że oddziałując na ścieżki sygnałowe poprzez zastosowanie analogów lizofosfolipidów (jak BMP), które bezpośrednio oddziałują z błonami komórkowymi, a które występują endogennie w komórkach (np. w błonach endosomów) lub osoczu, można modulować ścieżkę sygnałową TLR4. Ponadto wykazanie, że hamowanie ścieżki TLR4 zależne od TRIF (ale nie MyD88) przez BMP jest ograniczone do chemokiny RANTES, a mechanizm działania BMP opiera się na zmniejszeniu uporządkowania lipidów w błonach (praca 2).
- (ii) pokazanie, że LPA – naturalny fosfolipid, względem którego BMP odgrywa rolę antagonistyczną, podany przed LPS moduluje jego działanie. A w szczególności, wykazanie, że ścieżki sygnałowe LPA i TLR4 krzyżują się (*cross talk*) zatem stosując pierwszy z ligandów można wpływać na przebieg odpowiedzi na lipopolisacharyd. Wyniki te mają potencjał terapeutyczny. Istotne jest również wskazanie elementów mechanizmu odpowiedzialnego za ten efekt, w tym ścieżek sygnałowych (p38) oraz receptorów dla LPA (LPA 5 i 6), które kumulatywnie prowadzą do zwiększonej produkcji przeciwzapalnej IL-10 hamując produkcję cytokin przeciwzapalnych zależną od szlaku MyD88 (praca 5).
- (iii) Wykazanie, mechanizmów recyklingu CD14 w endosomach, w tym wykazanie znaczenia tego zjawiska dla zależnej od LPS aktywacji komórek oraz pokazanie roli białek z rodziny neksyn sortowania błony (SNX1, 2 i 6) w tym procesie (praca 6). Ponadto udokumentowanie, że sfingomieliny obecne w błonie komórkowej, których synteza zależy od syntaz SMS1 i 2, są istotne dla prawidłowego poziomu CD14, bez wpływu na poziom TLR4. Na przewodnictwo sygnałowe tego ostatniego (TRIF) wpływają jednak poprzez upośledzony *signaling* CD14 (praca 3).

Ponadto, w przypadku prac przeglądowych (prace 1 i 4) należy zwrócić uwagę, że były one najczęściej cytowane (praca 4 - 251 razy), co wskazuje na ich wysoki poziom i docenienie przez środowisko naukowe.

Reasumując, osiągnięcie habilitacyjne dr inż. Anny Ciesielskiej oceniam bardzo dobrze, rozprawa wnosi istotny wkład w rozwój dziedziny naukowej. Wykonanie badań wymagało dużego zaangażowania i wkładu pracy, współpracy oraz dobrej znajomości nowoczesnych technik i metod badawczych.

IV. Ocena dorobku naukowego po uzyskaniu stopnia doktora nauk

Dorobek naukowy dr inż. Anny Ciesielskiej od uzyskania stopnia naukowego doktora nauk technicznych (rok 2013) należy uznać za wystarczający do wszczęcia przewodu habilitacyjnego. Poza pracami wchodzącymi w skład cyklu, dorobek Habilitantki po doktoracie składa się z 6 oryginalnych prac badawczych i 3 artykułów przeglądowych opublikowanych w czasopiśmie indeksowanym w bazie *Web of Sciences* (IF od 4.107 do 8.877), część z tych prac była już wielokrotnie cytowana, np. 59 razy pozycja nr 10 ("*Protein Palmitoylation and Its Role in Bacterial and Viral Infections*" Sobocińska J., Roszczenko-Jasińska P., Ciesielska A., Kwiatkowska K., *Front. Immunol.* 2018, 8:2003.) lub 29 razy pozycja nr 15 ("*Visualization of cholesterol deposits in lysosomes of Niemann-Pick type C fibroblasts using recombinant perfringolysin O*" Kwiatkowska K., Marszałek-Sadowska E., Traczyk G., Koprowski P., Musielak M., Lugowska A., Kulma M., Grzelczyk A., Sobota A., Orphanet J. *Rare Dis.* 2014, 9:64.). W żadnej z pozostałych prac spoza cyklu dr inż. Ciesielska nie była autorem wiodącym. Niestety kandydatka nie przedstawiła opisu okoliczności powstawania tych prac, współpracy z innymi ośrodkami, podczas gdy dwie z nich opublikowała bez udziału prof. dr hab. Katarzyny Kwiatkowskiej, z której zespołem jest związana od czasu stypendium podoktorskiego. Informacje te pomogłyby ocenić samodzielność naukową kandydatki. Tematyka wszystkich prac niewchodzących w cykl składający się na osiągnięcie habilitacyjne dotyczy (fosfo)lipidów obecnych w diecie i/lub budujących błony komórkowe w kontekście reakcji zapalnych o różnym podłożu. Należy także wspomnieć, że przed uzyskaniem stopnia doktora Pani Anna Ciesielska opublikowała 4 artykuły, w tym jeden w czasopiśmie z listy JCR jako pierwszy autor (IF=4.21).

Bardzo dobrze należy ocenić osiągnięcia dr inż. Anny Ciesielskiej w obszarze pozyskiwania finansowania badań naukowych. W szczególności kandydatka jest/była kierownikiem 3 projektów przyznawanych przez Narodowe Centrum Nauki (NCN): Fuga-2, Sonata-12 i Opus-20. Projekty te z pewnością pozwoliły jej na prowadzenie badań wchodzących w skład niniejszego opracowania. Ponadto dr inż. Ciesielska była wykonawcą (krótkotrwale) w projekcie finansowanym przez NCBiR. Także przed uzyskaniem stopnia doktora aktywnie uczestniczyła w kilku projektach grantowych.

Ponadto dr inż. Ciesielska kilkakrotnie (13) recenzowała artykuły naukowe na zaproszenie redakcji czasopism z listy JCR. Recenzowała także projekt *Czech Science Foundation*.

W ocenie parametrycznej całościowy dorobek naukowy pani dr inż. Anny Ciesielskiej posiada następujące wartości:

- Liczba wszystkich publikacji (JCR) = **19 (15)**

- Liczba cytowań = 561 (**538 - bez autocytowań**)
- Index H = **9**
- sumaryczny Impact Factor = **68,470**
- sumaryczna liczba punktów MEiN = **1710**

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk technicznych dr inż. Anna Ciesielska była autorem i współautorem 6 doniesień konferencyjnych, w tym na 5 konferencjach międzynarodowych, a na jednej konferencji (krajowej) wygłosiła prezentację ustną. Nie jest to duża liczba, zapewne fakt, iż uczestnictwo w konferencjach było ograniczone w okresie ostatnich trzech lat (pandemia) przyczynił się do tego zjawiska.

Reasumując, dorobek badawczy dr inż. Anny Ciesielskiej, zarówno prace, które składają się na cały Jej dorobek po uzyskaniu stopnia doktora nauk technicznych, jak i publikacje wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej, **wniosły wkład w pogłębienie i poszerzenie naszej wiedzy** w obszarze biologii komórki i immunologii dotyczący regulacyjnej roli białek i błon lipidowych w reakcjach odpornościowych indukowanych lipopolisacharydem i wskazują na **postęp naukowy poczyniony przez kandydatkę**.

V. Ocena osiągnięć organizacyjnych

Niestety w obszarze osiągnięć organizacyjnych kandydatka nie wykazała aktywności. Nie wykazała także członkostwa w organizacjach lub towarzystwach naukowych, zaangażowania w organizację konferencji czy zasiadania w redakcjach czasopism.

W kategorii organizacyjnej można częściowo uwzględnić jej zaangażowanie w realizację projektów innych badaczy, ocenę merytoryczną artykułów i projektu grantowego, opiekę nad stażystami i praktykantami czy udział w wydarzeniach popularyzujących naukę. Jednak z pewnością jest to **najslabsza część zgłoszonego osiągnięcia habilitacyjnego**.

VI. Ocena pracy dydaktycznej

Po otrzymaniu stopnia doktora Pani Anna Ciesielska pracowała w jednostce naukowej Polskiej Akademii Nauk nieprowadzącej bezpośrednio zajęć dydaktycznych dla studentów. Zapewne z tego powodu nie wykazano prowadzenia takich zajęć w osiągnięciu. Być może takie zajęcia kandydatka prowadziła w czasie studiów doktoranckich na Politechnice Łódzkiej, ale nie wykazano tego w załączonych materiałach. Natomiast dr inż. Ciesielska była promotorem pracy magisterskiej studentki Uniwersytetu Warszawskiego oraz promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim dr Kamili Prymas (oba zakończone). Ponadto była zaangażowana w

opiekę nad dwoma stażystkami w ramach dwóch niezależnych programów, Szkoły Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie i z ramienia województwa mazowieckiego. Dodatkowo opiekowała się studentami odbywającymi praktyki studenckie w macierzystym instytucie PAN. Choć dorobek dydaktyczny nie jest rozbudowany, co zapewne wynika z charakteru zatrudniającej jednostki, należy podkreślić, że kandydatka aktywnie angażowała się w popularyzację nauki, a w szczególności wygłaszała wykłady na Festiwalu Nauki (dwukrotnie) i w ramach wykładów Fundacji M. Nenckiego Wsparcia Nauk Biologicznych. Prowadziła także zajęcia dla uczniów dwóch liceów ogólnokształcących. **Reasumując, dorobek dydaktyczny dr inż. Anny Ciesielskiej należy ocenić jako dobry.**

VII. Wniosek końcowy

Dr inż. Anna Ciesielska po doktoracie osiągnęła znaczący postęp w pracy naukowo-badawczej i dydaktycznej. Oceniając cały dorobek naukowy Habilitantki należy podkreślić znaczenie prowadzonych przez nią badań dla rozwoju nauki, a oceniany dorobek jest dowodem postępującego rozwoju naukowego Pani Anny Ciesielskiej, która podejmuje trudne do realizacji eksperymenty, wymagające opanowania wielu technik badawczych, kompetencji naukowej i metodologicznej. Na podstawie analizy przedstawionych dokumentów umożliwiających określenie osiągnięć naukowo-badawczych kandydatki, w tym samego osiągnięcia naukowego oraz pozostałych osiągnięć, w oparciu o Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. z 2023 r. poz. 742) w mojej opinii kandydatka spełnia wymagania opisane w art. 219 ust 1 pkt. 2 w/w ustawy. W związku z powyższym **popieram wniosek o nadanie dr inż. Ciesielskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.**

Prof. dr hab. Elżbieta Kołaczkowska