

Wrocław, 16.07.2018r

Prof. dr hab. Anna Chełmońska-Soyta
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej

Ocena

osiągnięcia naukowego, pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych, dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej Pana dr Pawła Kowalczyka w związku z wnioskiem o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika

1. Sylwetka habilitanta

Pan dr Paweł Kowalczyk jest absolwentem Wydziału Rolniczego Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, gdzie uzyskał tytuł zawodowy magistra inżyniera biotechnologii rolniczej.

Stopień naukowy doktora uzyskał w 2005 r nadany decyzją Rady Naukowej Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Sekwencyjnie zależna indukcja egzocyklicznych adduktów zasad DNA przez trans-4-hydroksy-2-nonenal oraz aldehyd chlorooctowy, mutageneza i naprawa w komórkach *Escherichia coli*, .

W latach 2005- 2007 był asystentem w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN, następnie w latach 2007-2012 pracował jako starszy specjalista naukowo-techniczny w Interdyscyplinarnym Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego Uniwersytetu Warszawskiego, następnie w latach 2012-2013 pracował jako adiunkt w samodzielnym Zakładzie Biologii Mikroorganizmów na Wydziale Rolnictwa i Biologii SGGW a od 2016 do chwili obecnej jest zatrudniony na stanowisku specjalisty w Instytucie Fizjologii Żywienia im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie.

2. Ocena osiągnięcia naukowego pt. " Analiza stanów zapalnych, jednostek chorobowych oraz stresu oksydacyjnego w tkankach organizmów żywych pod wpływem wybranych patogenów szczepów bakteryjnych i ich interakcje z czwartorzędowymi amonowymi

cieczami jonowymi” przedstawionego przez dr Pawła Kowalczyka jako osiągnięcia habilitacyjnego.

Osiągnięcie naukowe składa się z 5 publikacji opublikowanych w latach 2010- 2018, z czego 4 z nich są pracami oryginalnymi i 1 jest pracą przeglądową. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopiśmie z listy JCR o zróżnicowanym IF wynoszącym od 1,795 do 3,648. Wartości parametryczne tego cyklu są następujące zbiorczy IF =14,375, liczba punktów MNiSW= 142.

Przedstawiony do oceny cykl prac nie stanowi typowego cyklu jednotematycznych prac badawczych, jednak można w nim znaleźć pewne powiązania tematyczne, które Habilitant stara się uwypuklić w załączonym autoreferacie wskazując, że tematyka przedstawionych prac łączy się z problemem stresu oksydacyjnego. W mojej ocenie w cyklu przedstawionych artykułów naukowych trzy z nich (oznaczone w autoreferacie jako B3, 4 i 5) bezpośrednio łączą się z cykl powiązanych ze sobą tematycznie prac, natomiast związek pozostałych dwóch (B1 i 2) nie jest jednoznaczny.

W tych trzech wskazanych powyżej pracach Habilitant w jednej z nich jest pierwszym autorem a w pozostałych dwóch drugim. Swoją rolę w ich powstawaniu ocenia jako odpowiednio 40, 25 i 30% a w oświadczeniu wskazuje siebie jako pomysłodawcę badań.

Problemem naukowym, którego rozwiązanie jest przedmiotem tych publikacji jest udział stresu oksydacyjnego w procesach uszkodzenia i naprawy DNA u zwierząt doświadczalnych utrzymywanych w zróżnicowanych warunkach ekspozycji na działanie czynników stresowych w tym lipopolisacharydu bakterii gram-ujemnych lub wysokich dawek żelaza przy pośredniej suplementacji czynników antyoksydacyjnych.

Wyniki przedstawionych prac wskazują, że indukowany stan zapalny u szczurów lub stres wywołany podażą żelaza u prosiąt noworodków wywołuje zmianę aktywności enzymów naprawczych DNA w tym glikozylaz DNA oraz ekspresji i aktywności endonukleazy APE1. Wkład Habilitanta w uzyskaniu wyników tych prac był niewątpliwy, ponieważ polegał on na prowadzeniu badań nad systemem aktywności glikozylaz DNA i naprawy DNA w homogenatach tkankowych za pomocą technik wycinania nukleotydów, stanowiąc tym samym jedną z zasadniczych części metodycznych przeprowadzonych eksperymentów. Prace te są warsztatowo zaawansowane a badania aktywności tych enzymów są specjalnością Habilitanta, co umożliwiło mu uczestnictwo w wielośrodkowych badaniach prowadzonych we współpracy z laboratoriami krajowymi i zagranicznymi.

W pracy- Kowalczyk P., Jaworek J., Kot M., Sokołowska B., Bieleń A., Janowska B., Cieśla J.M., Szparecki G., Sadoś B., Tudek B. (2016) Inflammation increases oxidative DNA damage repair and stimulates preneoplastic changes in colons of newborn rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol 67, No 2, 277-286.) wykazano, że dootrzewnowa podaż LPS *Salmonella typhimurium* indukuje wyższą aktywność naprawczą DNA homogenatów jelita szczurów niż LPS izolowany ze szczepu *Escherichia coli*. Ponadto wykazano, wzrost aktywności transkrypcyjnej endonukleazy APE1 pod wpływem 1 i 10 mg/ml LPS *S.typhimurium* przez cały czas doświadczenia, podczas gdy aktywność transkrypcyjną glikozylaz MPG, TDG i OOG miała charakter przejściowy. Obserwacje te potwierdziły nadrzędną rolę AP-endonukleazy w kontroli aktywności wskazanych glikozylaz oraz zróżnicowany poziom indukcji procesów naprawczych zależny od pochodzenia LPS.

W badaniach tych także wskazano po raz pierwszy, że wczesna ekspozycja na LPS może predysponować do tworzenia się ognisk nieprawidłowych krypt (Abberant Crypt Foci -ACF) u osobników dorosłych.

Pozostałe dwie prace tj:

Langie S.A.S., Kowalczyk P., Tomaszewski B., Vasilaki A., Maas L.M., Moonen E.J., Palagani A., Godschalk R.W.L., Tudek B., van Schooten F.J., Berghe W. V., Zabielski R., Mathers J.C. (2014) Redox and epigenetic regulation of the APE1 gene in the hippocampus of piglets: The effect of early life exposures. *DNA Repair*, 18, 52–62,

oraz

Langie S.A.S., Kowalczyk P., Tomaszewski B., Vasilaki A., Maas L.M., Moonen E.J., Palagani A., Godschalk R.W.L., Tudek B., van Schooten F.J., Berghe W. V., Zabielski R., Mathers J.C. (2014) Redox and epigenetic regulation of the APE1 gene in the hippocampus of piglets: The effect of early life exposures. *DNA Repair*, 18, 52–62.

wykonano na prosiętach, których matki były karmione w czasie ciąży dietą zawierającą suplementy anty-oksydacyjne.

U urodzonych prosiąt stres oksydacyjny wywoływano iniekcją preparatów żelazowych.

W pierwszej z nich wykazano, że indukcja procesów naprawczych DNA typu NER w tkankach jelita grubego pozostaje na niższym poziomie u prosiąt, których matki nie otrzymywały w dziecię suplementów anty-oksydacyjnych. Badania te potwierdziły wcześniejsze obserwacje wskazujące, że stres oksydacyjny upośledza procesy naprawcze DNA. Dlatego, hamowanie stresu oksydacyjnego może usprawnić procesy naprawcze DNA chroniąc tkanki przed mutagenezą indukowaną obecnością wolnych rodników tlenowych. Wyniki tej pracy wskazują zatem molekularne podstawy rozumienia wpływu diety na ochronę przed stresem

oksydacyjnym. Ponadto wskazują na możliwość wczesnej ochrony noworodków przed stresem oksydacyjnym poprzez prawidłową dietę matek, co stanowi ważny aspekt aplikacyjny tych badań.

W drugiej pracy Autorzy skupili się nad procesami naprawczymi DNA i ochroną antyoksydacyjną tkanki mózgowej nowonarodzonych prosiąt. Kluczowym osiągnięciem tej pracy było wykazanie epigenetycznej regulacji ekspresji endonukleazy AP1 poprzez zmiany metylacji sekwencji promotorowych genu tego białka, a także potencjalnego wpływu tego zjawiska na wiązanie czynników transkrypcyjnych zależnych od statusu oksydacyjno-redukcyjnego w tym Egr-1, HIF-1 i CREB.

Wyniki tych badań wskazują, że prenatalna suplementacja anty-oksydacyjna może przejściowo wpływać na zmianę ekspresji endonukleazy APE1 i przyczyniać się do zwiększenia poziomu naprawy DNA chroniąc tym samym tkankę mózgową noworodków przed skutkami ekspozycji na niekorzystne czynniki środowiskowe w tym okresie życia zwierząt.

Pozostałe dwie prace w bardzo odległy sposób dotyczą zagadnień stresu endotoksycznego i oksydacyjnego i procesów naprawy DNA. W obydwu pracach Habilitant jest autorem korespondującym.

Pierwsza z nich pt. "Miskiewicz A, Kowalczyk P., Mahdi-Oraibi S., Cybulska K., Misiewicz A. (2018) Bird feathers as potentially source of pathogen microorganisms- a new look at old diseases. Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology vol 111, Nr 3, 1-15," jest pracą przeglądową opisującą drobnoustroje bytujące u ptaków jako źródło zakażeń dla człowieka i przyczynę zoonoz. Habilitant w swoim autoreferacie zauważa:

„przedstawiona charakterystyka wybranych szczepów bakteryjnych w tym *E.coli* i wydzielanych przez nie endotoksyn lipopolisacharydów (LPS) bytujących na piórach ptasich jest unikatowym kompendium wiedzy na temat ptasich zoonoz istotnych dla zdrowia i życia człowieka". Jednak w mojej opinii umieszczenie tej pracy w cyklu artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitanta nie było celowe, ponieważ nie widzę silnego merytorycznego uzasadnienia łączenia tej pracy z pracami eksperymentalnymi, stanowiącymi podstawę tego cyklu. Być może intencją Habilitanta było „otwarcie” cyklu prac opracowaniem dotyczącym szeroko pojętych zagrożeń mikrobiologicznych człowieka i wskazanie szerszego kontekstu przedstawianych badań. Niestety zawartość tej pracy nie spełnia do końca znamion tej przesłanki. Nie mniej jednak praca ta zawiera istotne informacje o drobnoustrojach zasiedlających powłoki skórne drobiu, które mogą zagrażać zdrowiu człowieka.

Druga pracą w niewielkim stopniu powiązaną z innymi pracami cyklu jest artykuł pt: Borkowski A., Kowalczyk P., Czerwonka G., Cieśla J., Cłapa T., Misiewicz A., Szala M., Drabik M. (2017) Interaction of quaternary ammonium ionic liquids with bacterial membranes Studies with Escherichia coli R1–R4-type lipopolysaccharides. *Journal of Molecular Liquids* 246,282–289. Głównym osiągnięciem badań opisanych w tej publikacji jest wskazanie różnic pomiędzy szczepami gładkimi i szorstkimi w podatności na działanie cieczy jonowych. Wykazano, że szczepy szorstkie są bardziej podatne na toksyczne działanie tych związków. Praca ta stała się implikacją do dalszych badań nad powiązaniem pomiędzy zmianą struktury błony komórkowej bakterii i stresu oksydacyjnego w komórce bakteryjnej i potencjalnych uszkodzeń DNA bakteryjnego indukowanych cieczami jonowymi. Prawdopodobnie, choć jasno nie wynika to ani z treści opublikowanych wyników tej pracy ani z autoreferatu badania te skłoniły habilitanta do poszukiwań molekularnych skutków uszkodzeń i naprawy DNA w komórkach eukariotycznych .

Podsumowując:

Wyniki badań uzyskane w pierwszych 3 pracach będących częścią cyklu stanowią oryginalnych wkład do postępu nauki w rozumieniu wpływu stresu oksydacyjnego w tkankach zwierzęcych na indukcję procesów naprawczych DNA.

Wykazano, że ogólnoustrojowy proces zapalny wywołany podażą LPS prowadzi do zmian w procesach naprawy DNA na poziomie lokalnym w tkankach przewodu pokarmowego. Ponadto wykazano, że anty- oksydacyjna suplementacja diety matek reguluje procesy naprawy DNA w tkankach przewodu pokarmowego i w mózgu noworodków. Wykazano ponadto molekularne podłoże obserwowanych zmian na poziomie regulacji ekspresji genów w tym epigenetycznego mechanizmu regulacji ekspresji endonukleazy AP1 jako enzymu kontrolującego ekspresję enzymów podrzędnych tj. badanych glikozylaz. Udział Habilitanta w uzyskaniu tych wyników jest niezaprzeczalny.

Pozostałe dwie prace, choć w opinii recenzenta są bardzo luźno związane z zasadniczym nurtem badań stanowiących przedstawione osiągnięcie, wnoszą wkład w rozumienie interakcji pomiędzy bakteriami, środowiskiem i gospodarzem i mogą stanowić tło zasadniczych rezultatów osiągnięcia naukowego Habilitanta. Udział Habilitanta jako autora korespondującego w obu tych pracach potwierdza jego wiodącą rolę w ich powstaniu.

Reasumując uważam, że przedstawiony do oceny cykl prac pt. „Analiza stanów zapalnych, jednostek chorobowych oraz stresu oksydacyjnego w tkankach organizmów żywych pod wpływem wybranych patogenów szczepów bakteryjnych i ich interakcje z czwartorzędowymi

amonowymi cieczami jonowymi” pomimo wskazanych powyżej zastrzeżeń przedstawia odpowiednio wysoki poziom merytoryczny, który został osiągnięty dzięki twórczemu udziałowi Habilitanta oraz, że spełnia ustawowe wymogi osiągnięcia naukowego pozwalające na ubieganie się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

3. Ocena dorobku naukowego i publikacyjnego poza wskazanym osiągnięciem naukowym dr Pawła Kowalczyka oraz dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego oraz aktywności międzynarodowej

Pan dr Paweł Kowalczyk jest autorem łącznie 26 oryginalnych prac twórczych z czego 5 zostało włączone w cykl prac stanowiących osiągnięcie naukowe w niniejszym postępowaniu habilitacyjnym. Ponadto Habilitant jest współautorem w 1 monografii zarejestrowanej w bazie WoS i w 6 wydawnictwach spoza bazy WoS. Jest także autorem lub współautorem 44 doniesień konferencyjnych.

Wartość zbiorczego współczynnika wpływu (IF) wszystkich publikacji Habilitanta wynosi 68,479 w tym 14,375 za publikacje osiągnięcia naukowego. Liczba punktów wynikająca z kryteriów oceny czasopism wg MNiSW wynosi 892, liczba cytowań 160 i Index Hircha=7.

Habilitant w znacznym stopniu powiększył swój dorobek po uzyskaniu stopnia doktora bowiem przed doktoratem opublikował 1 pracę notowaną w bazie JCR w czasopiśmie, którego wartość IF=wynosiła 3,6. Liczba punktów MNiSW z tego okresu wynosiła 35 a liczba cytowań 37. Pozostałe 25 prac zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.

Oryginalne prace twórcze uwzględnione w bazie JCR i nie wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały publikowane w latach 2006-2018. Są to prace wieloautorskie i deklarowany udział w nich Habilitanta wynosił od 10 – 50%.

Współczynnik wpływu czasopism, w których zostały one opublikowane jest zróżnicowany i waha się od 0,373- 5,224. Niestety, przytoczone w autoreferacie dane nie zostały potwierdzone przez niezależny ośrodek biblioteczny, co jest obecnie przyjętą normą w ubieganiu się o awanse naukowe w kraju.

Tematyka badawcza prac Habilitanta jest szeroka i obejmuje kierunki badań dotyczące następujących zagadnień:

- roli egzocyklicznych adduktorów zasad DNA w komórkach bakteryjnych
- dynamiki i molekularnych mechanizmów rozwoju i przebudowy nabłonka przewodu pokarmowego zwierząt

- wpływu cieczy jonowych na błonę i ścianę komórkową bakterii oraz na lizę drobnoustrojów redukujących siarczany i tworzących biofilmy
- wpływu stresu oksydacyjnego na bioenergetyczne funkcje komórek układu sercowo-naczyniowego i ruchowego w oparciu o nowe techniki i analizy
- interakcji środowiskowych komórek bakterii, grzybów i komórek ssaków z nanokompozytami, nanocząsteczkami i metalami ciężkimi.

Jak wspomniano większość prac habilitanta powstała we współpracy z licznymi zespołami badawczymi w kraju i za granicą. Świadczy to o świetnych umiejętnościach Habilitanta w nawiązywaniu kontaktów naukowych ale również o tym, że dysponuje On odpowiednim warsztatem badawczym i związanym z tym „know-how” co umiejętnie wykorzystuje we współpracy. Habilitant wskazał aż 17 ośrodków krajowych i zagranicznych, z którymi aktywnie współpracował lub współpracuje a także odbył 11 krótkoterminowych zagranicznych staży badawczych.

Jednym jednak z mankamentów tej szerokiej, wielokierunkowej współpracy jest mała liczba prac, w których Habilitant jest jednoznacznie wiodącym autorem, co może rzutować w przyszłości na zdolność utworzenia własnej grupy badawczej i sięgania po niezależne ich finansowanie.

Potwierdzeniem tej obawy recenzenta jest fakt, że Habilitant nie kierował własnym projektem grantowym, natomiast co wymaga podkreślenia był wykonawcą w 4 projektach finansowanych przez Komitet Badań Naukowych i Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, w 3 projektach finansowanych ze źródeł uczelni a także w 2 projektach inwestycyjnych Uniwersytetu Warszawskiego.

Dorobek Habilitanta cechuje również bardzo szeroki dorobek publikacyjny w czasopiśmie o zasięgu krajowym kwalifikowanych wg listy B zgodnie z oceną MNiSW. Habilitant jest autorem 26 takich opracowań i Jego rola w ich opracowywaniu jest wyraźnie wiodąca. Mają one charakter głównie popularno- naukowy i dotyczą profilaktyki zdrowotnej, chorób cywilizacyjnych człowieka a także problemów współczesnej nauki z dziedziny nauk o życiu.

Habilitant ma również bardzo duże doświadczenie dydaktyczne. W latach 2007-2016 był nauczycielem akademickim Uniwersytetu Warszawskiego na Wydziale Biologii, SGGW w Warszawie na Wydziale Nauko Zwierzętach a także w Wyższej Szkole Zarządzania Personalem w Warszawie. Był autorem 1 rozdziału w podręczniku akademickim a także współautorem 3 skryptów do ćwiczeń. Brał czynny udział w organizacji procesu dydaktycznego na uczelni szczególnie w procesach przygotowywania materiałów do zajęć oraz

organizacji i zarządzania aparaturą. Ponadto angażował się w organizację spotkań i konferencji naukowych.

Dr Paweł Kowalczyk był opiekunem 1 pracy licencjackiej i opiekunem pomocniczym jednej pracy magisterskiej. Od 2017 r pełni funkcje promotora pomocniczego pracy doktorskiej mgr Mateusza Szymczaka w Instytucie Biotechnologii i Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie.

Dr Paweł Kowalczyk był wyróżniony indywidualną Nagrodą Rektora Uniwersytetu Warszawskiego w 2009 roku a także kilkakrotnie nagrodami za najlepsze doniesienia posterowe w ramach konferencji krajowych.

Podsumowując stwierdzam, że dorobek naukowy i publikacyjny poza wskazanym osiągnięciem naukowym dr Pawła Kowalczyka spełnia kryteria uprawniające do podjęcia samodzielnej aktywności badawczej wynikającej z uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego. Na szczególną uwagę zasługuje zdolność Habilitanta do podejmowania szerokiej współpracy naukowej z licznymi partnerami w zróżnicowanych obszarach badawczych.

Innym niewątpliwym atutem Habilitanta jest duże zaangażowanie w popularyzację wiedzy z pogranicza biologii i medycyny człowieka a także bardzo wyraźna aktywność dydaktyczna i podejmowanie wyzwań organizacyjnych.

4. Wniosek końcowy

Podsumowując łącznie ocenę osiągnięcia naukowego, dorobku naukowo-publikacyjnego oraz dydaktycznego i popularyzatorskiego uważam, że dorobek dr Pawła Kowalczyka spełnia kryteria dla osób ubiegających się o stopień doktora habilitowanego zawarte w rozporządzeniu MNiSW z dnia 1.09.2011, wydanego na podstawie art.16 ust.4 Ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. r65, poz.585, z późn.zm.)

Prof. dr hab. Anna Chełmońska-Soyta

