

Lublin, 28 sierpnia 2023.

## Ocena

### aktywności naukowej i osiągnięcia naukowego Pani dr nauk weterynaryjnych Magdaleny Żmigrodzkiej w związku z postępowaniem habilitacyjnym

Oceny dokonano zgodnie z decyzją Rady Doskonałości Naukowej z dnia 24 kwietnia 2023 r. i podjętej uchwały Rady Dyscypliny Weterynaria SGGW w Warszawie z dnia 21 czerwca 2023 r. w sprawie nadania dr nauk wet. Magdalenie Żmigrodzkiej stopnia doktora habilitowanego nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria (zgodnie z rozporządzeniem Ministra Edukacji i Nauki z dnia 11 października 2022 r.). Postępowanie w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria zostało wszczęte na podstawie Art. 221 ust. 4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574).

#### Informacje ogólne

Dr Magdalena Żmigrodzka uzyskała dyplom lekarza weterynarii w 2004 r w Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW. Po ukończeniu studiów rozpoczęła kształcenie na studiach doktoranckich w Katedrze Nauk Klinicznych macierzystej Uczelni. Po 6 latach uzyskała stopień doktora nauk weterynaryjnych w oparciu o dysertację pt:” Ocena aktywacji płytek krwi psów z małopłytkowością”. W 2011 r. uzyskała tytuł specjalisty laboratoryjnej diagnostyki weterynaryjnej.

W latach 2014-2015 pracowała jako kierownik zwierzętarni w Wojskowym Instytucie Higieny i Epidemiologii im. Generała K. Kaczkowskiego w Warszawie. Od października 2015 zatrudniona jest jako adiunkt w Zakładzie Patologii Zwierząt, Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW W Warszawie.

#### Ocena osiągnięcia

Habilitantka wskazała jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jednotematyczny cykl publikacji pt.: ”Wpływ in vitro mikropęcherzyków błonowych z płytek krwi i z linii komórkowych CLBL-1 i CLB70 na limfocyty krwi psów”, obejmujący 3 prace oryginalne opublikowanych w latach 2019-2022 w

międzynarodowych czasopismach naukowych (wszystkie w języku angielskim). Wszystkie publikacje wskazanego cyklu, stanowiące część doświadczalną, zostały opublikowane w renomowanych czasopismach anglojęzycznych dostępnych w bazie JCR i posiadających współczynnik wpływu (IF), który w tym okresie wynosił od 2,32 do 6,20. Sumaryczny IF osiągnięcia wynosi 14,736, ilość punktów MNiSW – 380. Dr Żmigrodzka jest pierwszym autorem we wszystkich publikacjach. Jej osobisty wkład w realizację badań i redagowanie tekstu prac doświadczalnych był większościowy -71-74% (w oparciu o załączone do dokumentacji oświadczenia współautorów oraz autoreferat). Tematyka wskazanego cyklu publikacji dotyczy analizy mikropęcherzyków błonowych przy użyciu metod cytometrii przepływowej.

Przedstawione do oceny osiągnięcie obejmuje monotematyczny cykl 3 publikacji:

- M. Żmigrodzka; O. Witkowska-Piłaszewicz; A. Rzepecka; A. Cywińska; D. Jagielski; A. Winnicka - Extracellular vesicles in the blood of dogs with cancer – a preliminary study. *Animals (Basel)* 2019, 9, 575 doi:10.3390/ani9080575

- M. Żmigrodzka O. Witkowska-Piłaszewicz; R. Pingwara; A. Winnicka - Platelet extracellular vesicles are taken up by canine T Lymphocytes but do not play a role in their proliferation. *Int J Mol Sci* 2022,10 5504 <https://doi.org/10.3390/ijms23105504>

- M. Żmigrodzka; O. Witkowska-Piłaszewicz; R. Pingwara; A. Pawlak; A. Winnicka - Canine B Cell Lymphoma – and leukemia-derived extracellular vesicles moderate differentiation and cytokine production of T and B cells in vitro. *Int J Mol Sci* 2022,17, 9831 <https://doi.org/10.3390/ijms23179831>

Cytując za Kandydatką celem badań własnych było:

- Określenie fenotypów i ocena ilościowa poszczególnych populacji mikropęcherzyków błonowych we krwi psów zdrowych oraz z chorobą nowotworową
- Ocena wpływu in vitro mikropęcherzyków błonowych pochodzenia płytkowego na fenotyp limfocytów i produkcję cytokin
- Ocena wpływu in vitro mikropęcherzyków błonowych pochodzenia nowotworowego na fenotyp limfocytów i produkcję cytokin

Onkologia weterynaryjna jest specjalnością stosunkowo nową i rozwijającą się pomału stąd czerpie wiele z onkologii medycznej. Z klinicznego punktu widzenia rozpoznanie jest trudne,

terapia jest kłopotliwa i kosztowna. Niewielu właścicieli się na nią decyduje. Z laboratoryjnego punktu widzenia systematyczny monitoring parametrów życiowych i prognostycznych jest często niemożliwy. Z teoretycznego punktu widzenia wiele mechanizmów kancerogenezy jest znanych ale wymaga potwierdzenia. Stąd podjęcie badań w tym zakresie wydaje się uzasadnione i każda nowa wiedza przydatna.

Część pierwsza osiągnięcia to praca typowo opisowa gdzie analizowana była krew psów zdrowych (n=13) i chorych z różnymi rodzajami nowotworów (n=16; 6 gruczolaków gruczołu sutkowego, 2 chłoniaki z komórek T oraz pojedyncze przypadki białaczki limfoblastycznej, czerniaka, gruczolaka jąder, mięsaka macicy, gruczolaka wątroby, naczyniakomięsaka, tłuszczaka, rozlanego chłoniaka z komórek B). Oznaczenie wniosło nową wiedzę potwierdzającą że znane już wcześniej u innych gatunków mikropęcherzyki błonowe pojawiają się w nadmiarze również u psów z chorobami nowotworowymi. Jak sama Kandydatka wskazuje ograniczeniem tej pracy są małe ilości przypadków klinicznych. Na pewno wyniki byłyby bardziej przekonujące gdyby krew była pobrana więcej niż raz dając dynamiczny obraz choroby i potencjalne zmiany w profilu mikropęcherzyków. Kandydatka wskazuje także, że istnieją bardziej zaawansowane metody umożliwiające ocenę ilościową mikropęcherzyków niż użyta w pracy cytometria przepływowa. Dodatkowo część dyskusji była poświęcona metodyce izolacji mikropęcherzyków błonowych wskazując na potencjalne błędy metodyczne prowadzące do fałszywie pozytywnych wyników.

Celem drugiej części była ocena wpływu mikropęcherzyków błonowych pochodzenia płytkowego na fenotyp limfocytów i produkcję cytokin u zdrowych psów. Doświadczenie wykonano na 10 zdrowych psach, które zgłosiły się na badania kontrolne do Kliniki Uniwersyteckiej. Hodowle komórkowe przeprowadzono w dwóch stężeniach mikropęcherzyków. Dyskusje zdominował problem izolacji pęcherzyków i wpływu procedury na osiągnięte wyniki. W drugiej części dyskusji Kandydatka przeanalizowała uzyskane wyniki i stwierdziła, że mikropęcherzyki łączą się z limfocytami T po 7 godzinnej inkubacji ale nie wpływają na ich proliferację, różnicowanie czy wewnątrzkomórkową produkcję IFN $\gamma$ , IL-17. Kandydatka przyznała, że ograniczeniem pracy był brak wyników in vivo oraz mała liczba zwierząt. Dodałabym ponownie, że zabrakło oceny w układzie dynamicznym pobrania co najmniej 2 krotne krwi.

Część trzecia obejmuje ocenę wpływu mikropęcherzyków pochodzenia nowotworowego z linii komórkowych chłoniaka (CLBL 1) oraz białaczki (CLB70) na fenotyp limfocytów i produkcję cytokin. W hodowlach wykorzystano dwa stężenia komórek nowotworowych. Wykazano, że mikropęcherzyki pochodzenia nowotworowego były pobierane przez limfocyty już w ciągu 60

min trwania doświadczenia różnie w zależności od nowotworu (źródło Autoreferat). Komórki chłoniaka wykazały zależność od stężenia podczas gdy mikropęcherzyki z komórek białaczki były pobierane niezależnie od ich stężenia i proces był bardziej aktywny. Po 5 dniowej hodowli stwierdzono, że mikropęcherzyki nie mają wpływu na proliferację limfocytów oraz produkcję IFN $\gamma$ , podczas gdy wpływ na produkcję IL-17 był selektywny i obejmował mikropęcherzyki komórek białaczki w wyższym użytym stężeniu (źródło wyniki w publikacji).

Pojawił się tu błąd edytorski ponieważ w rozdziale Wyniki znalazł się następujący fragment:

„Both cell lines’ EV uptake was observed within 30 min of cells’ co-incubation. The effectiveness of CLBL-1 EVs’ internalization was in a concentration-dependent manner, whereas CLB70 EVs were comparable in both 5 and 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentrations for all subpopulations of lymphocytes. CLB70 EVs were taken up more actively than CLBL-1 EVs.”

Podczas gdy w Dyskusji - „Both types of TEVs, in two concentrations (5 and 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), were effectively internalized by T and B lymphocytes after 30 min of co-culturing. There were no essential differences with the take up of CLBL-1 EVs depending on their concentration, whereas CLB70 EV internalization was higher in the 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentration”.

Cytując za Kandydatką - „osiągnięcie ...ma znaczenie na poziomie poznawczym”. Układ doświadczeń był dostosowany do założonych celów. Metodyka została dobrana adekwatnie do zadań. Założone cele pracy zostały osiągnięte. Osiągnięcie potwierdza nie tylko obecność mikropęcherzyków u psów zdrowych i z różnymi rodzajami nowotworów ale także wzrost ich liczby u tych ostatnich. Dodatkowo mikropęcherzyki pochodzenia płytkowego z krwi zdrowych psów są wchłaniane przez limfocyty co jednak nie wpływa na ich fenotyp ani proliferację czy sekrecję cytokin. Natomiast mikropęcherzyki pochodzenia płytkowego z 2 wybranych linii komórek chłoniaka i białaczki są pobierane przez limfocyty co także nie ma wpływu na ich proliferację. W ocenie Recenzenta są to wyniki a zabrakło ich interpretacji i konkluzji co z tego wynika dla procesu nowotworowego i jakie może mieć znaczenie dla rozpoznania czy terapii.

Cytując za Kandydatką:

- Mikropęcherzyki nowotworowe pochodzące z linii komórkowych:CLBL-1 i CLB70 wykazują zróżnicowany wpływ na subpopulacje limfocytów CD4+ i CD8+: dziewiczych, centralnych komórek pamięci, efektorowych komórek pamięci i komórek końcowo zróżnicowanych
- Mikropęcherzyki nowotworowe z linii CLB70wykazują działanie pronowotworowe przez zmniejszenie odsetka limfocytów CD8+IL-17+

Także wydają się wynikami a nie konkluzjami.

**W podsumowaniu należy stwierdzić, że osiągnięcie spełnia, choć w minimalnym stopniu, zapisy ustawowe ponieważ wnosi nową wiedzę do dyscypliny w zakresie onkologii weterynaryjnej.**

Na szczególne podkreślenie zasługuje nowoczesna i specjalistyczna metodyka cytometrii przepływowej oraz hodowli komórkowych wykorzystana w badaniach i swoboda ich stosowania przez Kandydatkę. Rozwijała konsekwentnie swoje umiejętności w tym zakresie na kursach i szkoleniach oraz podczas pobytów zagranicznych. Osiągnięcie niewątpliwie byłoby bogatsze gdyby poszerzone było o stworzenie protokołu izolacji mikropęcherzyków co wydaje się oczywiste w przypadku świadomości Kandydatki o niedoskonałościach i wątpliwościach metodycznych. Wniosłoby to tak oczekiwany aspekt praktyczny i przyczyniłoby się do ujednolicenia wyników takich badań w różnych ośrodkach w przyszłości. Jak sama Kandydatka wskazuje w pierwszej części pracy ograniczeniem jest liczba przypadków nowotworowych. Ograniczeniem wydaje się być również brak weryfikacji efektów linii komórkowych z materiałem od chorych psów i sprawdzenie reakcji na pacjencie co również aspekt praktyczny mogłoby wnieść. Wydawałoby się także oczywiste żeby przygotować kolejną pracę której celem byłoby wyeliminowanie i wyjaśnienie tych ograniczeń co spięłoby klamrą merytoryczną osiągnięcie. Na ocenę każdego osiągnięcia ma wpływ wykorzystanie jego wyników/efektów przez innych i cytowanie. Na dzień przygotowania recenzji te wartości wynosiły odpowiednio dla poszczególnych publikacji: 7, 2, 1.

#### **Ocena aktywności naukowej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej**

Dr M. Żmigrodzka była zatrudniona w latach 2014-2015 w Wojskowym Instytucie Higieny i Epidemiologii im. Generała K. Kaczkowskiego w Warszawie jako Kierownik Zwierzętarni. Okres ten zaowocował 2 publikacjami w których Kandydatka brała udział jako odpowiedzialna za eksperymenty na zwierzętach. Współpraca była kontynuowana w latach 2014-2018 w ramach projektu OPUS w którym Kandydatka była współautorem kolejnych 2 publikacji. Prace nie stanowiły głównego nurtu zainteresowań Kandydatki.

W ramach współpracy międzynarodowej Kandydatka legitymuje się miesięcznym pobytem w Uniwersytecie w Kentucky (Gluck Equine Center) w 2019, który zaowocował jedną publikacją. Tygodniowy pobyt w Szkole Cytometrii Uniwersytetu w Genewie w 2019 przyniósł podniesienie

kwalifikacji w zakresie techniki cytometrii i przyczynił się do przygotowania osiągnięcia.

Współpraca krajowa z Uniwersytetem Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie podczas studiów doktoranckich i udział w projekcie NN308237936 zaowocowały 2 publikacjami z lat 2015 oraz 2021. Współpraca z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu nawiązana w 2020 przyczyniła się do powstania jednej z prac stanowiących osiągnięcie.

**Podsumowując, chociaż Kandydatka nie była wiodącą w realizacji prac naukowych w innych instytucjach to publikacjami się legitymuje zatem spełnia minimalnie wymagania aktywności w więcej niż jednej instytucji naukowej.**

### **Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę**

Dr M. Żmigrodzka od początku swojej pracy udziela się dydaktycznie prowadząc zajęcia dla studentów kierunku weterynaria macierzystej uczelni nie tylko polskojęzycznych ale także anglojęzycznych. Prowadzi przedmioty obligatoryjnie zgodne z profilem swojej afiliacji a także fakultety. Zostały Jej także powierzone zajęcia dla kierunku Biotechnologia oraz Bioinżynieria Zwierząt SGGW.

Kandydatka legitymuje się ukończeniem kursów pedagogicznych.

Angażuje się w działalność Koła Naukowego Medyków Weterynaryjnych między innymi poprzez współorganizację dwóch edycji Międzynarodowej Konferencji Naukowej Studentów Weterynarii. Była promotorem pomocniczym w jednym postępowaniu doktorskim oraz recenzowała 3 prace inżynierskie i 1 dyplomową anglojęzyczną.

Od 2015 bierze czynny udział w Festiwalu Nauki poprzez lekcje pokazowe i warsztaty mikroskopowe.

Jest członkiem PoLLASA oraz PTNW. W swoim dorobku posiada 9 prac poglądowych w branżowych czasopismach polskich z zakresu diagnostyki weterynaryjnej.

Za swoje osiągnięcia organizacyjne otrzymała nagrody zespołowe JM Rektora SGGW.

**Podsumowując, aktywność Kandydatki w obszarze dydaktycznym, organizacyjnym oraz popularyzującym naukę jest adekwatna do etapu rozwoju naukowego.**

### **Informacja o aktywności naukowej**

W profilu aktywności naukowej Dr M. Żmigrodzkiej po uzyskaniu stopnia doktora można wyróżnić 4 kierunki:

- Zagadnienia obejmujące szeroko rozumiane płytki krwi u psów gdzie opublikowała 11 prac będąc pierwszym autorem w 9. Należą tu prace obejmujące między innymi doświadczenie doktoratowe oraz osiągnięcie i stanowią główny nurt zainteresowań naukowych
- Zagadnienia obejmujące szeroko rozumianą biochemię krwi u koni sportowych – opublikowała 6 prac jako członek zespołu
- Publikacje w ramach współpracy z Wojskowym Instytutem Higieny i Epidemiologii im. Generała K. Kaczkowskiego w Warszawie - 4 prace jako członek zespołu
- Inne – 3

Dr M. Żmigrodzka realizowała jako kierownik 2 projekty finansowane ze źródeł zewnętrznych (NCN, ZPORR) oraz uczestniczyła w 4 projektach jako wykonawca (MNiSW oraz NCN). Recenzowała 7 prac z czasopism międzynarodowych.

Dwie prace były nagrodzone w konkursie piśmienniczym PTNW (2018 oraz 2021).

Na uwagę zasługuje podnoszenie kwalifikacji w zakresie cytometrii i konsekwentne wykorzystywanie tej techniki w swoich badaniach. Niewątpliwie odnotować należy znaczny wzrost ilości prac po uzyskaniu stopnia dr. Główny nurt badawczy - tematyka płytek krwi u psów gdzie Kandydatka jest pierwszym autorem stanowi na dzień dzisiejszy mniej niż połowę wszystkich prac. Na pewno są to istotne pozycje w dorobku Kandydatki ale jednak powinny stanowić większość w wykazie publikacji. Tymczasem większość to prace wynikające ze współpracy, na pewno potrzebne bo wskazują na umiejętność pracy w zespole ale nie są to prace Kandydatki jako lidera.

O znaczeniu tych prac decyduje ich rozpoznawalność czyli cytowalność. Kandydatka przedstawiła jedynie całkowitą liczbę cytowani w liczbie ok. 350 nie dając możliwości oceny na ile są to cytowania prac wiodących, pochodzących z głównego nurtu zainteresowań a na ile tych pochodzących ze współpracy.

**W podsumowaniu należy stwierdzić, że po raz kolejny wymagania ustawowe co do osiągnięć są spełnione ale na minimalnym poziomie.**

### **Wnioski końcowe**

Podsumowując swoją ocenę stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie w formie monotematycznego cyklu 3 publikacji pt.: "Wpływ in vitro mikropęcherzyków błonowych z

płytek krwi i z linii komórkowych CLBL-1 i CLB70 na limfocyty krwi psów” wnosi nową wiedzę w rozwój dyscypliny weterynaria w zakresie onkologii weterynaryjnej poprzez zdefiniowanie obecności mikropęcherzyków pochodzenia płytkowego u psów z chorobami nowotworowymi oraz ich wpływu na limfocyty. Pozostały dorobek naukowy jest wystarczający na tym etapie rozwoju naukowego. Kandydatka wykazuje się dorobkiem naukowym realizowanym w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej. Kandydatka jest aktywna na polu dydaktycznym oraz w zakresie popularyzacji nauki. Jest także skuteczna w pozyskiwaniu funduszy zewnętrznych na prace naukowe. Mając powyższe na uwadze stwierdzam, że dr M. Żmigrodzka spełnia wymagania dla kandydatów ubiegających się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego zawarte w art 219 ust 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574). Wniosuję o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie dr M. Żmigrodzkiej stopnia doktora habilitowanego.

Kierownik Katedry Biochemii



Prof. dr hab. Marta Kankofer