



WARSZAWSKI
UNIwersytet
MEDYCZNY

KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOTERAPII I OPIEKI FARMACEUTYCZNEJ

Prof. dr hab. Mariusz Sacharczuk

Warszawa, 23.03.2026 r.

Ocena osiągnięcia naukowego pt.

**„Zmiany mikroskopowo-ultrastrukturalne i biochemiczne w wątrobie
wywołane czynnikami fizycznymi i chemicznymi
analizowane w doświadczalnym modelu myszy”**

**zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego oraz dorobku naukowego
doktor nauk biologicznych Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej
adiunkta Zakładu Biologii Medycznej, Instytutu Biologii,
Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach**

W związku z Uchwałą Nr 1/2026 z dnia 28.01.2026 przedstawiam ocenę dotyczącą: osiągnięcia naukowego (I), całokształtu dorobku naukowego (II) oraz osiągnięć w działalności dydaktycznej i organizacyjnej (III) dr n. biol. Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej, ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska jest absolwentką Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego, Instytutu Biologii Wyższej Szkoły Pedagogicznej im. Jana Kochanowskiego w Kielcach, który ukończyła w 1997 r, uzyskując tytuł zawodowy magistra biologii. Pracę magisterską pt. „*Wpływ różnych dawek taksolu na zmiany ultrastrukturalne w hepatocytach myszy*” wykonała pod kierunkiem dr Teodory Król. Od początku swej pracy zawodowej była związana z Uniwersytetem Jana Kochanowskiego w Kielcach. W 1997 r. została zatrudniona na stanowisku asystenta w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej, Instytutu Biologii tej jednostki (wówczas pod nazwą Wyższa Szkoła Pedagogiczna im. Jana Kochanowskiego w Kielcach), gdzie pracowała do 1998 r. W latach 1998-2002 podjęła pracę jako młodszy asystent

w Laboratorium Wód Powierzchniowych i Ścieków Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Kielcach. W 2002 r. ponownie podjęła pracę na Uniwersytecie im. Jana Kochanowskiego w Kielcach jako specjalista biolog w Zakładzie Biologii Medycznej, broniąc w 2004 roku rozprawę doktorską pt. „*Wpływ dehydroepiandrosteronu i melatoniny na zmiany biochemiczne i morfologiczne w wątrobie myszy*” i uzyskując stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia. Promotorem doktoratu był prof. dr hab. Adam Kołataj. W 2009 r. na podstawie pracy „Alkaloidy izochinolinowe, jako potencjalne leki w terapii onkologicznej” ukończyła studia podyplomowe w specjalizacji „Menadżer komercjalizacji i transferu wiedzy” na Wydziale Zarządzania i Administracji, Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego w Kielcach. Od roku 2004 jest adiunktem w Zakładzie Biologii Medycznej, Instytutu Biologii, Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach.

I. Ocena osiągnięcia naukowego pt. „*Zmiany mikroskopowo-ultrastrukturalne i biochemiczne w wątrobie wywołane czynnikami fizycznymi i chemicznymi analizowane w doświadczalnym modelu myszy*”.

Przedstawione do oceny osiągnięcie pt. „*Zmiany mikroskopowo-ultrastrukturalne i biochemiczne w wątrobie wywołane czynnikami fizycznymi i chemicznymi analizowane w doświadczalnym modelu myszy*” stanowi cykl publikacji poświęconych kilku zagadnieniom związanym z mechanizmami oddziaływania hepatotoksycznego i hepatoprotekcyjnego czynników fizycznych i chemicznych w mysich modelach *in vivo*. W szczególności Habilitantka scharakteryzowała rolę zmian czynnościowych i strukturalnych lizosomów wywołanych tymi procesami.

Sześć prac oryginalnych zawartych w przedstawionym do oceny cyklu prac ukazało się w dość długim okresie czasu, w latach 2018-2024 w czasopiśmie z listy filadelfijskiej takich jak *Radiation and Environmental Biophysics, International Journal of Radiation Biology, Metabolites, Cells, Food and Chemical Toxicology, Nutrients*. Zgodnie z rokiem opublikowania łączny współczynnik oddziaływania przedstawionych jako osiągnięcie publikacji wynosi 25,297, a łączna punktacja MNiSW 540. W trzech przedstawionych publikacjach Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska jest zarówno pierwszym jak i korespondencyjnym autorem. Przedstawiona do oceny dokumentacja składająca się na dorobek naukowy objęty przewodem habilitacyjnym zawiera oświadczenia większości współautorów, którzy wyrazili zgodę na użycie tych publikacji przez dr Agnieszkę Wnuk w staraniach o habilitację. Oświadczenia te nie budzą zastrzeżeń, gdyż wynika z nich jednoznacznie, że jej udział był wiodący lub znaczny na każdym etapie ich powstawania (od planowania i realizacji doświadczeń po końcowe przygotowywanie manuskryptów i korespondencję z redakcjami). Brak oświadczeń od dwóch współautorów (prof. Wolfgang Dörr, prof. Teodora Król) został przekonująco wyjaśniony przez Wnioskodawczynię i nie budzi wątpliwości. Uważam, że brak oświadczenia od Pani lek. Grażyny Szczukiewicz-Markowskiej, pomimo braku podania uzasadnionej przyczyny ze strony Współautorki, również nie powinien rodzić wątpliwości, co dowodzi deklarowany jej udział w samej publikacji (Author Contributions) oraz fakt, że Współautorka nie jest zarówno pierwszym, ostatnim ani korespondencyjnym autorem publikacji.

Habilitantka swoje osiągnięcie naukowe podzieliła na dwa główne zagadnienia dotyczące:

1. Wczesnych i późnych efektów oddziaływania promieniowania jonizującego na zmiany morfologiczne i biochemiczne w tkance wątrobowej, ze szczególnym uwzględnieniem ultrastruktury młodych i starzejących się a także zróżnicowanych genetycznie myszy (P1-P4).
2. Efektów oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego na zmiany biochemiczno-morfologiczne w wątrobie myszy (P5, P6).

Dwa zagadnienia ujęte w cyklu publikacji dotyczą ciekawych i ważnych aspektów klinicznych związanych z działaniami niepożądanymi radioterapii i preparatu leczniczego pochodzenia naturalnego Iscadoru P w postaci ich oddziaływania hepatotoksycznego, który był głównym zagadnieniem podjętym przez Habilitantkę. Bardzo ważnym aspektem w kontekście oddziaływania promieniowania jonizującego na wątrobę było ujęcie procesu starzenia i wrodzonej, uwarunkowanej dyslipidemii w modelu myszy ApoE^{-/-}. Wyniki z badań uwzględniających te czynniki pozwalają bowiem na predykcję oddziaływania niepożądanego radioterapii w zależności od wieku pacjenta i jego statusu lipidowego. Modelu tego nie zastosowano jednak w badaniach nad oddziaływaniem substancji pochodzenia naturalnego, a więc będącego przedmiotem drugiego zagadnienia. Podział osiągnięcia naukowego na dwa zagadnienia jest dość „niestandardowy” i moim zdaniem nie do końca uzasadniony, szczególnie że w żadnej z 2 prac przedstawianych jako drugie zagadnienie Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska nie jest pierwszym ani korespondencyjnym autorem. W zasadzie czwarta z cyklu publikacji przedstawionych jako pierwsze zagadnienie również nie jest do końca powiązana z trzema pierwszymi ponieważ nie podejmuje problematyki związanej z oddziaływaniem promieniowania jonizującego. Być może najwłaściwszym byłoby opublikowanie dodatkowej pracy przeglądowej dotyczącej pierwszego z zagadnień i ograniczenie tylko do tego wątku naukowego. Publikacje związane z oddziaływaniem preparatu Iscador P oraz promieniowania jonizującego można było powiązać logicznie w kontekście porównania oddziaływania czynnika fizycznego i chemicznego na badane zmiany w wątrobie, tym bardziej, że metodyka była w dużej mierze podobna a badany preparat jest używany w terapii onkologicznej, często na własną rękę przez pacjentów w trakcie radioterapii, co może prowadzić do nieprzewidywalnych konsekwencji w postaci osłabienia zasadniczego efektu terapeutycznego radioterapii czy też nasilić efekt uszkodzający promieniowania jonizującego na wątrobę. Szczególnie wartościowym byłoby zatem zbadanie łącznego oddziaływania tych dwu czynników, a więc tak częstego w praktyce klinicznej efektu ich interakcji (mniej lub bardziej kontrolowanego przez klinicystów).

Bardzo ciekawym i potencjalnie bardzo ważnym było wykazanie przez Habilitantkę obniżenie aktywności wszystkich hydrolaz lizosomalnych (oprócz katepsyn) przez Iscador P, a więc w pewnym stopniu jego działania antagonistycznego do oddziaływania promieniowania jonizującego, co może mieć istotne znaczenie w radioterapii wielu nowotworów. Przyjęty przez Wnioskodawczynię podział cyklu na dwa zagadnienia nie jest oczywiście błędem formalnym.

W pierwszej z cyklu prac oryginalnych, opublikowanej w 2018 r. w czasopiśmie *Radiation and Environmental Biophysics* (IF = 1,267, MNiSzW = 20 pkt), dr Małgorzata Łysek-Gładysińska i wsp. przedstawili wyniki doświadczeń, których celem było zbadanie późnych zmian morfologicznych i czynnościowych wątroby wywołanych oddziaływaniem promieniowania jonizującego po jego 1-razowej ekspozycji (2 lub 8Gy) skierowanej w okolice serca myszy C57BL/6J oraz myszy z nokautem genu apolipoproteiny E (ApoE^{-/-}). W pracy wykazano, że efektem oddziaływania promieniowania jonizującego były liczne uszkodzenia mitochondriów i nasilone tworzenie się złogów lipidowych, przy czym efekt ten był znacznie bardziej nasilony u myszy ApoE^{-/-}. Moim zdaniem najciekawszym wynikiem było wykazanie zahamowania indukcji autofagii lizosomalnej oraz zwiększoną aktywność ALT, AST, GGT i lipazy we krwi u myszy z nokautem genu *ApoE*.

Należy jednak zaznaczyć, a co podkreśla również Habilitantka, że dawka promieniowania eksponowana na wątrobę nie mogła być ściśle określona a jedynie prognozowana na poziomie odpowiednio 30 i 120 mGy. Ponadto, przy interpretacji wyników nie uwzględniono zmienionej przenikalności promieniowania jonizującego przez tkanki o wyższym stopniu stłuszczenia, szczególnie wątroby, występującego u myszy ApoE^{-/-}. Kolejnym czynnikiem utrudniającym właściwą ocenę otrzymanych wyników jest wysoce prawdopodobny wpływ uszkodzenia serca, szczególnie w kontekście zmian hemodynamicznych prawej komory, co utrudnia dokładne określenie oddziaływania samego promieniowania jonizującego na wątrobę. Tylko określenie wskaźników hemodynamicznych serca i wskaźników badań dopplerowskich pozwoliłyby rozpoznać subkliniczne skurczowe i rozkurczowe nieprawidłowości czynnościowe prawej komory serca wpływające na czynność wątroby. Należy również zaznaczyć, że u myszy ApoE^{-/-} obserwuje się zaawansowany rozwój miażdżycy, w tym naczyń wieńcowych, co prowadzi do zwiększonego ryzyka jego dalszego uszkodzenia przez promieniowanie jonizujące i w konsekwencji rozwój zmian obserwowanym przez Autorów w wątrobie, co może w pewnym stopniu utrudniać właściwą interpretację. Ponadto, zastanawiającym jest, że pomimo bezpośredniego udziału w realizacji obu projektów dotyczących określeniu zmian sercowo-naczyniowych wywołanych promieniowaniem jonizującym (FP7/2—7-2011 oraz MNiSWN 402 6856 40) brak jest udokumentowanych publikacji z tych badań.

W autoreferacie dotyczącym tej części badań pojawiają się również pewne niedoprecyzowania czy też sformułowania potoczne odnoszące się m.in. do modelu myszy ApoE^{-/-}. Po pierwsze model ten powstał nie w wyniku „usunięcia” alleli tego genu, lecz rekombinacją homologiczną, czyli przerwano ciągłość genu. Po drugie, w takim modelu występuje całkowity brak ekspresji genu ApoE, a nie jak opisuje Habilitantka, „niedobór jego poziomu”. Są to zapewne błędy edytorskie, niemniej jednak dotyczące bardzo ważnego modelu użytego w doświadczeniach Habilitantki. Nie istnieje także proces biologiczny o nazwie „labializacja błon komórkowych”, którego to terminu Habilitantka używa kilkakrotnie w pracy P2. Najprawdopodobniej jest to pomyłka lub niepoprawne połączenie terminów z fonetyki (labializacja) i biologii (błona biologiczna).

W kolejnej współautorskiej pracy, opublikowanej w 2018 r. w *International Journal of Radiation Biology* (IF = 2,266; MNiSW = 35 pkt) Habilitantka określiła bardzo

wczesne i wczesne zmiany morfologiczne i funkcjonalne wątroby związane z pośrednim napromieniowaniem wątroby po ekspozycji dawką 8Gy w okolice serca (z szacowaną dawką na poziomie 1Gy najmniej ekspozowanej części wątroby, która użyto do badań). Przeprowadzone badania wykazały, że na bardzo wczesnym etapie następuje wzrost liczby mitochondriów, które w późniejszym okresie ulegają dysfunkcji i degradacji w autofagosoamach, bez istotnego efektu autofagii lizosomalnej, co potwierdził m.in. brak istotnego wzrostu ekspresji białek markerowych tj. LC3-II i p62, a co mogło być spowodowane dysfunkcją lizosomów manifestującą się m.in. wzrostem przepuszczalności błony lizosomalnej i wyciekami hydrolaz do przestrzeni pozalizosomalnej. Jednocześnie Habilitantka bardzo słusznie stwierdziła, że „na uzyskane wyniki badań mogły wpływać czynniki związane z dużą heterogennością rzeczywistej dawki oraz tzw. „efektem sąsiedztwa”, indukowanym przez sygnały emitowane przez komórki wątroby bezpośrednio napromieniowane wyższymi dawkami a także efektami systemowymi wynikającymi z uszkodzenia samego serca. Potwierdza to pewne trudności interpretacyjne obserwowanych wczesnych i późnych zmian morfologicznych i czynnościowych wątroby w sytuacji braku bezpośredniej ekspozycji i braku określenia stopnia dysfunkcji serca. **Bardzo pozytywnie oceniam natomiast identyfikację ograniczeń metodologicznych i ostrożność w interpretacji otrzymanych wyników, które świadczą o dojrzałości naukowej Habilitantki.**

Trzecia z prac, będąca w strukturze określonej przez Habilitantkę w tematyce pierwszego zagadnienia osiągnięcia, opublikowana jako ostatnia z cyklu w 2024 r. w *Metabolites* (IF = 3,700; MNiSW = 100 pkt) dotyczy podobnej problematyki jaka jest ujęta w pierwszej z prac (P1), a mianowicie późnych efektów zmian morfologicznych i czynnościowych wątroby wywołanych jej pośrednim napromieniowaniem po ekspozycji wiązki na obszar serca. W przypadku tej publikacji badania przeprowadzono jedynie na samcach myszy C57BL/6J, przy szacowanych dawkach pochłoniętego promieniowania do analizowanej części wątroby na poziomie 0,025 Gy, 0,25 Gy, 1 Gy i 2 Gy. Zmiany morfologiczne w hepatocytach obejmowały zwiększoną liczbę pierwotnych lizosomów i wakuoli autofagicznych, które były widoczne w tkankach napromieniowanych dawkami 0,25 Gy i wyższymi. Z drugiej strony, istotny wzrost aktywności hydrolaz lizosomalnych zaobserwowano jedynie w tkankach ekspozowanych na dawkę 2 Gy. Dlaczego zatem w pracy P1 zmiany aktywności hydrolaz obserwowano już przy dawce 120mGy?

Zastanawiającym są również inne wartości oszacowanej dawki promieniowania pochłoniętej przez wątrobę podanej w tych publikacjach. W pierwszej z prac przy zastosowaniu dawki 2 i 6 Gy wartości promieniowania pochłoniętego na badaną część wątroby oszacowano na poziomie odpowiednio 30 i 120 mGy, podczas gdy w pracy P3 przy takich samych dawkach ekspozowanych na serce dawki pochłonięte przez wątrobę wynosiły 0,25Gy oraz 1Gy. Są to więc wartości około 8 krotnie wyższe w porównaniu do podanych w pracy P1. Zapewne wynika to z różnej aparatury użytej w badaniach publikacji P1 i P3. Niezrozumiałym są natomiast inne wartości podane w pracy P2, gdzie użyto takiego samego aparatu i przy takiej samej dawce 8 Gy wartość dawki przyjętej w analizowanej części wątroby oszacowano na poniżej 1Gy. Takie rozbieżności utrudniają lub wręcz uniemożliwiają ocenę porównawczą otrzymanych wyników

w pracach P1-P3, a szczególnie P2 i P1, tj. porównanie wczesnych i późnych efektów napromieniowania wątroby.

Ostatnia z prac pierwszego zagadnienia cyklu dotyczy najwyższej punktowanej publikacji pod względem IF (7,666) i punktów MNiSW (140), będącej zatem największym osiągnięciem z cyklu publikacji, w której Habilitantka jest pierwszym autorem. Praca ta jest jednocześnie najczęściej cytowana spośród wszystkich prac podanych w osiągnięciu. Publikacja ta (podobnie jak praca P2) w dużym stopniu pokrywa się z publikacją P1, szczególnie pod względem modelu badawczego (C57BL/6 vs. ApoE^{-/-}) i wieku zwierząt poddanych badaniom. W zasadzie, w pracy P4 poszerzono badania w odniesieniu do myszy grup kontrolnych, tj. nie poddanych napromieniowaniu. Dodatkowymi elementami publikacji P4 w porównaniu do publikacji P1 jest grupa wiekowa 7-miesięcznych myszy oraz jednoczesna analiza zmian morfologicznych i czynnościowych w hepatocytach i kardiomiocytach. Przedstawione wyniki z badań są w dużym stopniu potwierdzeniem i uzupełnieniem znanych procesów patologicznych powstających z wiekiem u myszy ApoE^{-/-}. W hepatocytach starszych zwierząt zaobserwowano zwiększoną liczbę uszkodzonych mitochondriów, lizosomów i złogów lipidowych. Jednocześnie, zaobserwowane zmiany związane ze starzeniem były istotnie silniej zaznaczone w hepatocytach zwierząt z nokautem genu *ApoE*. Ciekawym spostrzeżeniem był zwiększony odsetek uszkodzonych mitochondriów w kardiomiocytach starszych zwierząt, przy czym różnica między C57BL/6 a myszami ApoE^{-/-} przejawiała się występowaniem powiększonych mitochondriów u myszy z nokautem genu *ApoE*. Potwierdzono jednocześnie charakterystyczne cechy myszy ApoE^{-/-} związane z dyslipidemią. Poziom cholesterolu całkowitego i frakcji HDL był znacznie wyższy w osoczu starszych myszy ApoE^{-/-} w porównaniu do młodszych osobników z nokautem tego genu oraz w porównaniu do myszy typu dzikiego. Poziom zaburzeń związanych z dyslipidemia nasilał się wraz z procesem starzenia, co jest bardzo dobrze udokumentowanym zjawiskiem i cechą tego modelu badawczego. Z drugiej strony, aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT) zmniejszyła się w osoczu starszych myszy ApoE^{-/-} i była wyraźnie niższa niż w osoczu starszych zwierząt typu dzikiego. Jest to dobrze poznany proces związany z zaawansowanym uszkodzeniem wątroby. Poziom ALT odzwierciedla bowiem aktywne uszkodzenie hepatocytów, a nie ich liczbę. Obniżenie poziomu ALT obserwowane jest także u ludzi (np. w zaawansowanej marskości).

Kolejne dwie prace objęte cyklem dotyczyły badań *in vivo* efektów oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego na zmiany biochemiczno-morfologiczne w wątrobie myszy. Wszystkie doświadczenia zostały wykonane z użyciem niekrewniaczego stada myszy Swiss-Webster.

Pierwsza z tych prac, w której dr Małgorzata Łysek-Gładysińska jest drugim autorem, została opublikowana w Food and Chemical Toxicology (IF = 4,679; MNiSW = 100 pkt) i dotyczyła zbadania krótkotrwałych (do 48 godzin) efektów związków pochodzących z jemioli na hepatocyty samic myszy Swiss-Webster w wieku 16 miesięcy. W badaniach wykorzystano standaryzowany ekstrakt z jemioli Iscador P, który podano w schemacie pojedynczej iniekcji w kilku dawkach (0,1 mg/kg mc., 1 mg/kg mc. lub 2 mg/kg mc.). Aktywność hydrolaz lizosomalnych: kwaśnej fosfatazy, katepsyn D

i L, N-acetylo- β -D-heksozoaminidazy, β -D-glukuronidazy, β -D-glukozydazy oraz proteaz cytozolowych: aminopeptydaz argininowych i leucynowych analizowano we frakcjach wątroby po 24 i 48 godzinach od podania. W badaniach wykazano, że Iscador P spowodował spadek aktywności wszystkich hydrolaz lizosomalnych (z wyjątkiem katepsyn) w osadzie lizosomalnym oraz wzrost aktywności aminopeptydaz i β -D-glukuronidazy w cytozolu. Pomimo membranotropowych właściwości wiskotoksyn, nie zaobserwowano istotnego efektu na błony lizosomalne. Jednocześnie wykazano powiększenie i zwiększenie liczebności mitochondriów w hepatocytach, przy jednoczesnym zmniejszeniu powierzchni szorstkiego retikulum endoplazmatycznego.

Kolejna, ostatnia praca cyklu, w której Habilitantka jest trzecim autorem, została opublikowana w 2020 r. w *Nutrients* (IF = 5,719; MNiSW = 140 pkt) i dotyczyła oceny wpływu suplementacji diety nasionami kozieradki na status antyoksydacyjny wątroby u starzejących się myszy. Badanie przeprowadzono na 12-miesięcznych samcach myszy Swiss-Webster. W badaniach oceniono aktywność enzymów obrony antyoksydacyjnej, takich jak dysmutaza nadtlenkowa (SOD), reduktaza glutationu (GR) oraz peroksydaza glutationowa (GPx), a także zdolność usuwania związków fenolowych i wolnych rodników w wątrobie myszy po suplementacji kozieradką. Analiza aktywności SOD, GPx i GR wykazała różnice pomiędzy badanymi enzymami. Autorzy badań wskazali, że suplementacja diety nasionami kozieradki wywiera korzystny wpływ na aktywność enzymatycznych mechanizmów obronnych o charakterze antyoksydacyjnym w wątrobie starzejących się myszy. Należy jednocześnie zaznaczyć, że praca ta ma najwyższy wskaźnik cytowań (ogółem 35 cytowań) spośród wszystkich publikacji przedstawionych do osiągnięcia.

Podsumowując, przedstawione osiągnięcie naukowe stanowi cykl sześciu artykułów naukowych opublikowanych w latach 2018–2024 w renomowanych, recenzowanych czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports. Na podstawie przedstawionych oświadczeń współautorów należy stwierdzić, że **wkład Autorki w powstanie większości tych prac był wiodący**. Cykl ten spełnia wymogi określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, zarówno pod względem formalnym, jak i merytorycznym. Prace skoncentrowane są na analizie wpływu wybranych czynników fizycznych i biologicznych (promieniowanie jonizujące, proces starzenia) oraz chemicznych (związki pochodzenia roślinnego) na zmiany morfologiczne i funkcjonalne wątroby w modelu myszy, ze szczególnym uwzględnieniem zmian ultrastrukturalnych hepatocytów, aktywności układu lizosomalnego, procesów autofagii oraz stresu oksydacyjnego. **Na uwagę zasługuje fakt, że mimo zróżnicowania czynników eksperymentalnych, wszystkie prace łączy wspólna oś badawcza dotycząca roli lizosomów, mitochondriów i metabolizmu lipidów w adaptacyjnej i patologicznej odpowiedzi hepatocytów na stres komórkowy, co zapewnia spójność koncepcyjną całego cyklu.**

Cykl publikacji, stanowiący osiągnięcie naukowe został uzupełniony autoreferatem zawierającym wprowadzenie do problematyki mechanizmów odpowiedzi komórek na działanie czynników stresowych, takich jak promieniowanie jonizujące, zmiany towarzyszące starzeniu organizmu czy ekspozycja na związki chemiczne pochodzenia

roślinnego. Następnie Habilitantka omówiła w sposób syntetyczny cele podjętych badań, zastosowaną metodykę oraz opis uzyskanych wyników wraz z wnioskami. Całość zamyka bibliografia licząca 49 dobrze dobranych pozycji literatury, które jednak nie zostały prawidłowo sformatowane. W strukturze Autoreferatu brakuje również wyraźnie zdefiniowanych hipotez badawczych, które Habilitantka weryfikowała w toku realizacji postawionych celów badawczych.

Znaczenie podjętej problematyki: Trzy pierwsze prace cyklu osiągnięcia wpisują się w problematykę dotyczącą nieintencjonalnego i niepożądanego napromienienia tkanek sąsiadujących, które stanowi bardzo istotny problem zarówno w radioterapii, jak i w częstej diagnostyce obrazowej. Podczas terapeutycznego napromieniania nowotworów zlokalizowanych np. w obrębie klatki piersiowej część dawki promieniowania może docierać do narządów położonych poza obszarem docelowym, takich jak wątroba, co może prowadzić do uszkodzeń komórek, stresu oksydacyjnego oraz zaburzeń funkcji metabolicznych. Ryzyko to jest szczególnie istotne w przypadku ekspozycji powtarzalnych lub wysokodawkowych a także w sytuacji występowania procesów patologicznych dotyczących poszczególnych narządów czy też schorzeń ogólnoustrojowych. Z tego względu kluczowe znaczenie ma optymalizacja technik napromieniania oraz stosowanie zasady ALARA (As Low As Reasonably Achievable) w celu minimalizacji narażenia tkanek zdrowych. W tym kontekście Habilitantka bardzo dobrze dobrała modele badawcze myszy C57BL/6 oraz ApoE^{-/-}, jako model dyslipidemii i w konsekwencji rozwojowi postępujących czasowo procesów patologicznych wątroby.

W swoich badaniach Habilitantka podjęła również problematykę konieczności holistycznego podejścia do oceny skutków napromienienia, uwzględniającego nie tylko lokalne uszkodzenia tkanek, ale również długofalowe konsekwencje ogólnoustrojowe, które mogą istotnie wpływać na funkcjonowanie narządów nieobjętych bezpośrednio polem napromieniania. Uszkodzenie narządu bezpośrednio poddanego napromienieniu może wywoływać wtórne zaburzenia funkcji innych narządów, nawet jeśli nie zostały one bezpośrednio ekspozowane na promieniowanie jonizujące. Mechanizm ten wynika z istnienia ścisłych powiązań czynnościowych pomiędzy układami narządów oraz z ogólnoustrojowej odpowiedzi organizmu na uszkodzenie popromienne. Przykładem takiej zależności, które było przedmiotem badań Habilitantki, jest napromienienie okolicy serca, które może prowadzić do rozwoju popromiennej choroby serca, obejmującej zaburzenia kurczliwości mięśnia sercowego spowodowane uszkodzeniem kardiomiocytów oraz uszkodzenie naczyń wieńcowych. Następnie upośledzenie funkcji serca może skutkować zaburzeniami hemodynamicznymi, w tym przewlekłym zastojem żylnym i niedotlenieniem narządów obwodowych. Wątroba, jako narząd silnie zależny od prawidłowego przepływu krwi, jest szczególnie wrażliwa na tego typu zmiany, co może prowadzić do rozwoju hepatopatii zastoinowej, zaburzeń metabolicznych oraz nasilenia stresu oksydacyjnego. W konsekwencji dochodzi do wtórnego uszkodzenia wątroby, które nie jest bezpośrednim skutkiem napromienienia, lecz efektem kaskady zdarzeń zapoczątkowanych przez uszkodzenie serca. Ponadto, postępujące zmiany demograficzne w Polsce i na świecie związane ze starzeniem się społeczeństwa jednoznacznie wskazują, że badania dotyczące procesów patologicznych związanych z wiekiem wydają się wręcz priorytetowe, tym bardziej że są to jednostki chorobowe

o słabo poznanej dotychczas etiologii i mechanizmach przebiegu a w związku z tym ograniczoną możliwością leczenia przyczynowego.

Przedstawione osiągnięcie wnosi istotny wkład w rozwój nauk biomedycznych, w szczególności biologii radiacyjnej, biologii komórki, toksykologii oraz badań nad procesami starzenia. Uzyskane wyniki mają znaczenie nie tylko poznawcze, ale również potencjalnie aplikacyjne, m.in. w ocenie odległych skutków radioterapii i ich wpływu na narządy nieobjęte bezpośrednim polem napromieniania, identyfikacji ultrastrukturalnych markerów hepatotoksyczności, poszukiwaniu naturalnych substancji o potencjale hepatoprotekcyjnym oraz projektowania strategii ograniczania działań niepożądanych terapii onkologicznych.

Habilitantka planuje również weryfikację uzyskanych wyników badań w modelach myszy humanizowanych czy też technik omicznych. Zamierza również prowadzić dalsze poszukiwania nowych strategii profilaktycznych i terapeutycznych opartych na naturalnych substancjach bioaktywnych o potencjale hepatoprotekcyjnym. co niewątpliwie może wpłynąć nie tylko na dalsze poznanie badanych mechanizmów, ale zwiększy ich potencjał aplikacyjny.

Dobór modelu badawczego i metodyki: Zastosowanie odpowiednich procedur badawczych jest warunkiem niezbędnym do otrzymania wiarygodnych wyników. Badania zaplanowane przez Habilitantkę wymagały szerokiej wiedzy i umiejętności zarówno z zakresu radiologii, patofizjologii oraz farmakologii. Przeprowadzone doświadczenia były również złożone i czasochłonne, zatem niezbędna była również zdolność organizacji pracy. Połączenie analiz ultrastrukturalnych wykorzystujących transmisyjną mikroskopię elektronową (TEM), jako kluczowe narzędzie badawcze z oceną aktywności hydrolaz lizosomalnych, analizą markerów autofagii, oznaczeniami parametrów biochemicznych w osoczu oraz oceną enzymatycznych i nieenzymatycznych systemów antyoksydacyjnych zapewniło wiarygodną interpretację uzyskanych wyników. Na uznanie zasługuje również umiejętne wykorzystanie różnych modeli zwierzęcych (myszy C57BL/6J, ApoE^{-/-}, Swiss Webster) oraz uwzględnienie wieku zwierząt, co znacząco zwiększa wartość poznawczą badań i ich potencjał translacyjny.

Podsumowując, za najważniejsze wyniki uzyskane w cyklu publikacyjnym uważam:

1. Wykazanie wczesnych i późnych skutków napromieniania serca manifestujących się zmianami ultrastrukturalnymi i biochemicznymi w wątrobie, która nie była bezpośrednim celem radioterapii (prace P1–P3);
2. Udokumentowanie zależności zmian morfologicznych i czynnościowych wątroby wywołanych promieniowaniem jonizującym i starzeniem od uwarunkowań genetycznych, w szczególności od metabolizmu lipidów i statutu funkcjonalnego genu apolipoproteiny E (P1, P4);
3. Wykazanie bardzo wczesnych zmian lizosomalnych i mitochondrialnych w hepatocytach po napromienianiu *in vivo*, przy braku jednoznacznej aktywacji autofagii, co wnosi istotny wkład w poznaniu mechanizmów adaptacyjnych w odpowiedzi na promieniowanie (P2);

4. identyfikację mechanizmu działania Iscadoru P, obejmującego modyfikację aktywności enzymów lizosomalnych i zmian ultrastrukturalnych hepatocytów, bez ewidentnych zmian fizykochemicznych błon lizosomalnych (P5);
5. Wykazanie hepatoprotekcyjnego oddziaływania suplementacji nasionami kozieradki poprzez modulację układów antyoksydacyjnych w wątrobie starzejących się myszy (P6).

Należy zaznaczyć, że otrzymane przez Habilitantkę wyniki nie mają charakteru jedynie potwierdzającego dane literaturowe, lecz w wielu aspektach wnoszą szereg nowych odkryć badawczych.

Wnioskodawczyni ma sprecyzowane zainteresowania badawcze z zakresu hepatologii, które dzięki swoim wysokim kompetencjom konsekwentnie realizuje od początku swojej kariery naukowej, a które dotyczą szeroko pojętych oddziaływań czynników o charakterze hepatoprotekcyjnym i hepatotoksycznym.

W podsumowaniu oceny stwierdzam, że przedstawione przez dr Małgorzatę Łysek-Gładysińską osiągnięcie naukowe stanowi spójny, oryginalny i wartościowy cykl publikacji, spełniający wymagania stawiane osiągnięciom habilitacyjnym i stanowi znaczny wkład w rozwój dziedziny nauk biologicznych w dyscyplinie biologia

II. Ocena dorobku naukowego

Całkowity dorobek publikacyjny dr Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej w chwili składania ocenianego wniosku obejmował 26 publikacji (w tym dwu przed uzyskaniem stopnia doktora), w istotnej części przygotowane z udziałem Kandydatki. Jednym z najważniejszych osiągnięć w dorobku naukowym Habilitantki jest jej udział w publikacji wydanej w Nature Biotechnology. Ogółem prace Habilitantki cytowane były łącznie wg. Web of Sciences 322 razy (303 bez autocytowań), natomiast wg. Scopus 363 razy (341 bez cytowań), co przełożyło się na współczynnik Hirscha wynoszący 11. Należy zwrócić uwagę, że dorobek publikacyjny oraz zainteresowanie środowiska naukowego wynikami badań Habilitantki szczególnie wzrosły na przestrzeni ostatnich 10 lat, a więc od chwili podjęcia przez Wnioskodawczynię licznych współprac z krajowymi i zagranicznymi jednostkami naukowymi.

Do innych publikacyjnych osiągnięć naukowych Kandydatki należy 58 prezentacji (w tym ustnych) na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Kandydatka brała też czynny udział w wydarzeniach popularyzujących naukę wygłaszając trzy prezentacje o charakterze popularnonaukowym. Wygłosiła również sześć wykładów na seminariach naukowych w kraju i zagranicą.

Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska była wykonawcą zrealizowanych czterech projektów badawczych, w tym trzech finansowanych przez NCN i jednego finansowanego w ramach Siódmego Programu Ramowego Europejskiej Wspólnoty Energii Atomowej (CARDIORISK). Duża aktywność projektowa Kandydatki jako

wykonawcy świadczy o jej wysokich umiejętnościach badawczych oraz rozpoznawalności w środowisku naukowym. Ponadto, Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska kierowała 15 projektami finansowanymi ze środków własnych Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach a w sześciu projektach była członkiem zespołu.

Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska jest również aktywnym działaczem wielu towarzystw naukowych, w tym Świętokrzyskiego Oddziału Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych (od 2018 roku), Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem z siedzibą w Gliwicach (od 2013 roku), Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych im. Marii Skłodowskiej-Curie (od 2024 roku). W latach 2005-2008 była również członkiem Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych (PTDL).

Bardzo ważnym w rozwoju naukowym Habilitantki, świadczącym o jej mobilności i możliwości nawiązywania współpracy, były również odbyte od 2012 liczne krótko- i średnioterminowe staże naukowe krajowe (Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej - Curie Oddział w Gliwicach; Instytucie Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu; Laboratorium Inżynierii Tkankowej i Banku Tkanek, Centrum Naukowo-Badawcze Artmedik Sp.z o.o. w Kielcach) oraz zagraniczne (University of East Anglia, Norwich Medical School, Biomedical Research Centre; Faculty of Pharmacology, University of Alcalá; National Institute on Deafness and Other Communication Disorders (NIDCD), Bethesda, Maryland, USA).

Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska brała również udział w trzech programach Unii Europejskiej Erasmus+, w ramach których prowadziła zajęcia dydaktyczne dla studentów i pracowników, m.in. w Università Degli Studi Della Tuscia Di Viterbo, Department for Innovation in Biological Systems, Food and Forestry (DIBF), Viterbo, Włochy, 1 tydzień, 2014, Università Degli Studi Della Tuscia Di Viterbo, Department for Innovation in Biological Systems, Food and Forestry (DIBF), Viterbo Włochy, 1 tydzień, 2017 oraz Shibaura Institute of Technology, Department of Applied Chemistry, Toyosu, Koto-ku, Tokyo, Japonia, 1 tydzień, 2019.

Habilitantka jest recenzentem czasopism takich jak: *Animal Sciences Papers and Reports*, *Acta Biochemica Polonica* oraz *Studia Medyczne* wykonując dotychczas pięć ocen.

Ważnym podkreślenia jest prowadzenie przez Kandydatkę licznych współprac naukowych ze znanymi ośrodkami zagranicznymi jak i krajowymi, m.in. z prof. Arturem Józwikiem z Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu, która zaowocowała opublikowaniem siedmiu prac w tym czterech wchodzących do cyklu habilitacyjnego i trzech prac badawczych opublikowanych poza tym cyklem. Współpraca ta dotyczyła m.in. oddziaływania aktywnych związków pochodzenia naturalnego na procesy fizjologiczne różnych gatunków zwierząt i zaowocowała publikacją wyników w *Nature Biotechnology*. Istotny wpływ na rozwój naukowy Habilitantki miała również współpraca z dr hab. Dorotą Gabryś z Narodowego Centrum Onkologii w Gliwicach, która dotyczyła wykonawstwa w projekcie MNiSW oraz projekcie CARDIORISK realizowanym w ramach międzynarodowego grantu Euratom 7th Framework Programme for Nuclear Research and Training, w których głównym zadaniem Habilitantki była ocena

zmian ultrastrukturalnych w hepatocytach i kardiomiocytach oraz zmian biochemicznych zachodzących w obrębie wątroby po napromienianiu obszaru serca a efektem tej współpracy są wszystkie 4 publikacje pierwszego zagadnienia osiągnięcia Habilitantki oraz liczne publikacje spoza cyklu. Podczas staży naukowych odbytych w latach 2012-2013 w Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Nowotworów Centrum Onkologii w Gliwicach (obecnie Narodowy Instytut Onkologii) Habilitantka podjęła współpracę z prof. Moniką Pietrowską, z którą jako wykonawca projektu NCN dotyczącego analizy egzosomów uwalnianych z komórek raka głowy i szyi w odpowiedzi na czynniki genotoksyczne przeprowadzała analizy ultrastruktury egzosomów w transmisyjnym mikroskopie elektronowym w próbkach uzyskanych z hodowli komórkowych oraz z surowicy krwi pacjentów. Wyniki z tych badań zostały opublikowane w dwu kolejnych pracach Habilitantki. W ramach współpracy krajowej Habilitantka podjęła wspólne badania z zespołem dr hab. Pawła Konieczki ze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, które koncentrowały się na poszukiwaniu najskuteczniejszych źródeł selenu (Se) do zastosowań komercyjnych i które zostały opublikowane w 2023 roku w czasopiśmie *Antioxidants*. Kolejna aktywność naukowa Habilitantki związana była z realizacją badań prowadzonych we współpracy z Medycznym Laboratorium Diagnostycznym podmiotu leczniczego Meduniv Sp. z o.o. w Kielcach, w gdzie w 2021 roku podjęła badania diagnostyczne i naukowe nad wirusem SARS-CoV-2 odpowiedzialnym za zachorowania na COVID-19, którego RNA poddano analizie zmienności genu RdRp w korelacji z różnym przebiegiem klinicznym choroby. Uzyskane wyniki badań zostały opublikowane w 2023 i 2024 r. w *Journal of Inflammation Research* oraz 2024 r. w czasopiśmie *BMC Infectious Diseases*.

Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska swoją karierę naukową realizowała również w oparciu o liczne współpracę z zagranicznymi zespołami badawczymi. W trakcie dwumiesięcznego stażu na University of East Anglia, Norwich Medical School, Norwich, UK, uczestniczyła w badaniach realizowanych w ramach projektu prof. Toma Wilemana dotyczącego choroby Leśniewskiego-Crohna, w ramach którego przeprowadzała analizę zmian submikroskopowych w komórkach Paneta i Gobleta, enterocytach i organoidach jelitowych, a także połączeń międzykomórkowych, które ulegają modyfikacjom podobnym o obserwowanych w przebiegu choroby Leśniewskiego-Crohna. Kontynuując tematykę związaną z oddziaływaniem promieniowania jonizującego podjęła współpracę z grupą badawczą prof. Andrzeja Wójcika z University of Stockholm, Department of Molecular Biosciences, The Wenner-Gren Institute, oraz dr hab. Beatą Brzozowską z Zakładu Fizyki Biomedycznej Uniwersytetu Warszawskiego przeprowadzając badania nad zależnością między lokalizacją pęknięć dwuniciowego DNA wewnątrz jądra a strukturą chromatyny, za pomocą wysokorozdzielczej transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Wyniki z tych badań opublikowano w 2023r. w czasopiśmie *DNA Repair (Amst)*. Nawiązanie kolejnej współpracy z grupą badawczą z University de Alcalá w Hiszpanii (Javier Sanchez-Nieves oraz F Javier de la Mata) dotyczyło nowego obszaru badawczego Habilitantki dotyczącego oporności bakterii Gram-ujemnych na antybiotyki oraz poszukiwania alternatywnych metod ich zwalczania, a czego efektem jest pięć wspólnych publikacji.

W ramach popularyzacji nauki Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska prowadziła weekendowe zajęcia z młodzieżą licealną w ramach programu: PO.03.01.00-00-C070/16;

UNIwersytet MŁODYCH (2020, 2021) oraz warsztaty dla młodzieży licealnej w ramach cyklicznego wydarzenia popularyzującego naukę „Noc Biologów” organizowanego w Instytucie Biologii w latach 2018-2025 a także warsztaty i laboratoria dla młodzieży licealnej w ramach programu „Dzisiaj uczeń jutro student” (2024-2025).

Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska pełniła liczne **funkcje organizacyjne**, m.in. jako przewodnicząca i członek Zespołu Ewaluacji Jakości Kształcenia (ZEIK) na Wydziale Nauk Ścisłych i Przyrodniczych w latach 2022-2024. Była również członkiem Rady Instytutu Biologii (2005-2011, 2020-2024) oraz Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego, gdzie pełniła funkcję przewodniczącej Komisji Skrutacyjnej (2012-2020) oraz sekretarza Rady tego wydziału (2018-2020) UJK. W latach 2006-2008 w Instytucie Biologii, UJK w Kielcach pełniła funkcję kierownika studiów podyplomowych „Biologia z elementami diagnostyki” a od 2017 jest koordynatorem Współpracy Międzynarodowej pomiędzy Uniwersytetem Jana Kochanowskiego w Kielcach a Università Degli Studi Tuscia w Viterbo,

W uznaniu osiągnięć naukowych Kandydatka została odznaczona w 2014r. Medalem Brązowym za długoletnią służbę. Za wyróżniające osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2023/2024 otrzymała również Nagrodę indywidualną I stopnia Rektora Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach. Otrzymała także nominację Kapituły Redakcji „Echa Dnia” do tytułu Osobowość Roku 2024 w kategorii Nauka.

Podsumowując tę część oceny mogę stwierdzić:

Habilitantka posiada istotny dorobek naukowy, przekraczający wymagania ustawowe, niezbędne dla uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

III. Ocena działalności dydaktycznej

W odniesieniu do działalności dydaktycznej dorobek Kandydatki również nie budzi moich zastrzeżeń. Pomimo zaangażowania w pracę naukową Habilitantka również na tym polu ma szereg osiągnięć, głównie w postaci promotorstwa prac magisterskich (30 prac) i licencjackich (27), a więc aktywności związanych z kształceniem akademickim. W chwili złożenia wniosku o nadanie stopnia dra habilitowanego Kandydatka jest również promotorem pomocniczym w otwartym przewodzie doktorskim w Instytucie Biologii UJK w Kielcach. W latach 2009/2010 była opiekunem studiów na kierunku biologia. Prowadzi także liczne wykłady, seminaria, ćwiczenia oraz zajęcia laboratoryjne na kierunku lekarskim biologii, biotechnologii i kosmetologii.

W latach 2020-2022 Pani dr Małgorzata Łysek-Gładysińska była recenzentem czterech prac olimpijskich uczniów szkół średnich na Zawodach Okręgowych Olimpiady Biologicznej (II stopnia) a w 2021 roku także członkiem Komitetu Okręgowego Olimpiady Biologicznej.

Wnioski końcowe

Doktor nauk biologicznych Małgorzata Łysek-Gładysińska jest doświadczonym pracownikiem naukowym. Zainteresowania naukowe Habilitantki są szerokie, lecz szczególnie koncentrują się na patofizjologii wątroby, w tym na procesach hepatotoksycznych i możliwościach oddziaływania hepatoprotekcyjnego przez różne związki, w tym pochodzenia naturalnego, w różnych modelach zwierzęcych. Badania naukowe nad tymi zagadnieniami prowadzone są przez Habilitantkę od 25 lat zarówno w ramach jej działalności naukowej związanej z Uniwersytetem Jana Kochanowskiego w Kielcach jak i współpracy z licznymi krajowymi i zagranicznymi jednostkami naukowymi.

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe, które stanowi cykl sześciu prac oryginalnych uważam za bardzo interesujące i wartościowe. Publikacje te stanowią istotny wkład w poznanie mechanizmów hepatotoksyczności wywołanej czynnikami fizycznymi i chemicznymi oraz oddziaływania hepatoprotekcyjnego związków pochodzenia naturalnego.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że dorobek naukowy, dydaktyczny i organizatorski dr Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej spełnia wszystkie wymogi stawiane osobom ubiegającym się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Wnoszę zatem wniosek o dalsze procedowanie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne Pani dr Małgorzacie Łysek-Gładysińskiej.

PROFESOR
Katedry i Zakładu Farmakoterapii
i Opieki Farmaceutycznej
prof. dr hab. Mariusz Sacharczuk
Z wyrazami szacunku