

Ocena dorobku

**naukowo-badawczego, dydaktyczno-wychowawczego i organizacyjnego
oraz osiągnięcia naukowego pt.**

***Charakterystyka pozajelitowych zarażeń mikrosporydiami
u pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie i pacjentów
z przewlekłym stanem zapalnym***

doktor nauk biologicznych MARTY KICIA

Jako recenzent powołany do oceny dokonań dr n. biol. MARTY KICIA, ubiegającej się o stopień naukowy doktora habilitowanego w oparciu o art. 16 i 18a Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14.03.2003 r. (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) w dziedzinie nauk medycznych, przedstawiam swoje opracowanie w oparciu o dostarczone dokumenty:

- *rozwój kariery naukowej i zawodowej Kandydatki zawarty w Autoreferacie,*
- *osiągnięć naukowo-badawczych w obszarze nauk biologicznych, przedstawionych w dostarczonych materiałach jako najważniejsze osiągnięcia naukowe w wymiarze krajowym i międzynarodowym,*
- *dorobku naukowego w postaci ważniejszych publikacji, zawartych w wykazach.*

1. INFORMACJE PODSTAWOWE O KANDYDATCE

Dr n. biol. MARTA KICIA po ukończeniu studiów na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego w r. 2003 i uzyskaniu tytułu licencjata z biotechnologii, a także po odbyciu studiów na Wydziale Biotechnologii, tegoż Uniwersytetu w r. 2005 - magistra biotechnologii ze specjalnością biologia molekularna, rozpoczęła studia doktoranckie w Zakładzie Biologii Molekularnej Komórki Wydziału Biotechnologii UW. W r. 2009 została zatrudniona w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, początkowo jako asystent, a następnie - adiunkt (od r. 2014); w r. 2013 Kandydatka została powołana na stanowisko Kierownika Pracowni Biologii Molekularnej tejże Katedry.

Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biotechnologii p. MARTA KICIA uzyskała w r. 2011 na Wydziale Biotechnologii UW na podstawie rozprawy doktor-

skiej pt. *Strategia odwrotnej genetyki w badaniach funkcji mitochondrialnych proteaz typu AAA u Arabidopsis thaliana*, wykonanej w Zakładzie Biologii Molekularnej Komórki, pod kierunkiem prof. dr hab. Hanny Jańskiej.

* * * *

2. CHARAKTERYSTYKA DOROBKU NAUKOWEGO

Ogółem dorobek naukowy dr n. biol. MARTY KICIA, poza publikacjami zgłoszonymi jako osiągnięcie naukowe, obejmuje 23 prace, wśród których:

* 5 ukazało się przed doktoratem, lub jest z nim związana:

1 rozprawa doktorska,

2 prace oryginalne, IF = 6,946, liczba punktów MNiSW =32;

1 praca oryginalna, bez IF, liczba punktów MNiSW =2

1 praca przeglądowa -

łącznie prace te mają IF=6,946 i liczbę punktów MNiSW = 34

* 18 opublikowano po doktoracie:

13 prac oryginalnych, w pełnej wersji, ukazało się w czasopismach recenzowanych, IF=28,405, liczba punktów MNiSW =285;

3 prace kazuistyczne, IF =7,612, liczba punktów MNiSW=75;

1 praca kazuistyczne, bez IF, liczba punktów MNiSW=15

1 praca poglądowa, IF =2,027, liczba punktów MNiSW=30

łącznie prace te mają IF = 42,303 i liczbę punktów MNiSW = 445.

Reasumując publikacje przed i po doktoracie, bez przedstawionych jako najważniejsze osiągnięcia naukowe, uzyskały IF = 49,249 i łączną liczbę punktów MNiSW = 479.

Wg bazy Web of Science liczba cytowań, bez autocytowań, prac dr KICIA wynosi 173, zaś index Hirscha – 7, natomiast wg bazy Scopus odpowiednio - 221 i 9 (stan na 15.04.2019 r.).

Po doktoracie Kandydatka w 4 pracach jest pierwszym autorem, w kolejnych 4. - ostatnim.

Kierunki badań dr n. biol. MARTY KICIA dotyczą:

1. charakterystyki funkcji zależnych od ATP mitochondrialnych proteaz u *Arabidopsis thaliana* (I.A.1, I.A.8, I.B.1., III.B.1);
2. prewalencji i charakterystyki zoonotycznych protistów u zwierząt domowych i dziko żyjących (I.A.11, I.A.12, I.A.13);
3. prewalencji oraz zróżnicowania genotypowego *Pneumocystis jirovecii* wśród pacjentów z immunosupresją oraz z różnymi chorobami układu oddechowego (I.A.10., I.A.14, I.A.15, III.A.1);
4. porównania wpływu wybranych czynników zaburzających podziały komórkowe oraz preparatów roślinnych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym na uropatogenne szczepy *Escherichia coli* (I.A.2, I.A.3, I.A.4, I.A.5, I.A.6, I.A.7, I.A.9);
5. zarażeń *Encephalitozoon* spp., *E. bieneusi* i *Cryptosporidium* spp. oraz tęgoryjcem i węgorkiem u osób immunokompetentnych i pacjentów z immunosupresją (II.A.1, II.A.2, II.A.3, II.B.1).

* numery odpowiadają numeracji zawartej w Załączniku 4 wykazu opublikowanych prac, przygotowanym przez Kandydatkę.

Ad. 1. Pierwsza praca z tego cyklu (III.B.1) stanowi opracowanie przeglądowe na temat wyciszania genów u roślin. Kolejne trzy, w tym jedna opublikowana w 2016 r., w których Kandydatka jest współautorką, prezentują wyniki badań oryginalnych dotyczących AtFtsH14 (I.A.1, I.A.8, I.B.1.) - metaloproteazy pełniącej ważną rolę w procesie kiełkowania nasion *Arabidopsis thaliana* w różnych warunkach, m.in. uczestniczy w tworzeniu lub/i stabilizacji kompleksów V łańcucha transportu elektronów oraz w utrzymaniu prawidłowej funkcji mitochondriów. Brak AtFtsH14 prowadzi do zaburzenia przejście roślin z fazy wzrostu wegetatywnego do generatywnego, a także stresu oksydacyjnego, przy obecności którego brak ten nie jest kompensowany przez białka o aktywności opiekuńczej (prohibityny - PHB).

Ad 2. Zastępującymi na uwagę są publikacje, w których Habilitantka jest współautorem, dot. potencjalnie patogennych dla człowieka protistów u zwierząt. Z badań przeprowadzonych 255 wśród kotów domowych i dzikich w Czechach (odpowiednio: 55 i 63), Słowacji (34 i 39) oraz Polsce (31 i 32) wynika, że u 2 na 120 domowych i u 30 na 135 dzikich wykryto *Cryptosporidium felis* (11 przypadków), *Encephalitozoon cuniculi* (9) i *Enterocytozoon bieneusi* (12), a ponadto *Giardia intestinalis* (16) (I.A.11).

W odrębnej publikacji przedstawiono wyniki poszukiwania mikrosporydiów w kale psów (126) i kotów (44) domowych w Polsce (I.A.13), uzyskując wyniki dodatnie od 10 (7,9%) zwierząt. Najczęściej wykrywano *Enterocytozoon bieneusi* (8 przypadków; genotypy: PtEbIX, eb52 i D); znacznie rzadziej - *Encephalitozoon cuniculi* (genotyp II).

Kolejną grupą zwierząt, u której poszukiwano w kale protistów były gawrony (I.A.12). Ze względu na małą ilość kału wydalanego jednorazowo przez te ptaki tworzono zawierające po 20 kałów próbki; łącznie badaniami objęto 15 takich zestawów próbek (20x15=300). *Enterocytozoon bieneusi* wykryto w 3 zestawach, zaś rodzaj *Encephalitozoon* - w 1. Bardzo istotnym jest fakt, że jest to pierwszy opis występowania *E. bieneusi* oraz *Encephalitozoon hellem* w odchodach gawronów.

Ad 3. W dorobku dr KICIA znajdują się także publikacje dotyczące *Pneumocystis jirovecii*. Wprowadzeniem do tematu jest publikacja przeglądowa (III.A.1), w której autorzy opisali historię tego gatunku, cykl życiowy, zróżnicowanie genetyczne, transmisję, kolonizację oraz pneumocystyzowe zapalenie płuc (PZP), a także jego diagnostykę, leczenie i zapobieganie.

Habilitantka brała udział w wielośrodkowych badaniach nad różnorodnością tego gatunku w 16 krajach Europy (I.A.10). Łącznie przeprowadzono analizę 361 próbek (85,1% stanowił BAL, 14,9% - plwocina), wykrywając we wszystkich, różnymi metodami, *P. jirovecii*. Genotypowanie wykazało w blisko 2/3 próbek występowanie mieszaniny genotypów, w tym w ponad 1/3 kilka genów zajmowało 1 locus, a w pozostałych ≥ 2 loci. Blisko 85% genotypów było charakterystycznych dla pojedynczego kraju, 8,8% - dla dwu, 4,4% - dla trzech, 1,5 - dla czterech i 0,7% - dla pięć-

ciu. Interesujące jest zaobserwowanie zależności pomiędzy genotypem a chorobą zasadniczą (głównie HIV i biorcy nerek) osób, od których pobrano próbki. Wykazana różnorodność genetyczna wskazuje na stałą transmisję grzyba pomiędzy ludźmi, zwłaszcza immunoniekompotentnymi i jednocześnie nabywanie nowych genotypów oraz obecność kilku z nich u jednej osoby.

Rozszerzając badania w tym zakresie Kandydatka uczestniczyła w pracy dot. genotypowania *P.jiroveci* u 105 pacjentów z różnymi chorobami płuc (I.A.14); ze wskazań medycznych mieli oni wykonywaną bronchoskopię, podczas której pobierano popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe do badania. DNA grzyba wykryto w 16,2% próbek, przy czym ze względu na brak objawów podmiotowych i przedmiotowych PZP oraz małą liczbę wykrytych cyst (<5) wszystkie przypadki uznano za kolonizację. W oparciu o 3 *loci* określono 8 różnych genotypów; najczęstszymi były Pj1 i Pj2. Wykazano, że zmutowane szczepy CYB występują tylko u pacjentów z rakiem płuc.

Oddzielną grupę chorych, u których poszukiwano *Pneumocystis jirovecii* byli biorcy nerek (I.A.15). Materiał stanowiła uzyskana od 72 pacjentów płwocina, w której u 11% wykryto materiał genetyczny patogena. Pneumocystozowe zapalenie płuc zdiagnozowano w jednym przypadku; wykryto korelację pomiędzy zastosowaniem inhibitorów kalcyneuryny i prednizonu, a kolonizacją wśród biorców przeszczepu nerki.

Ad 4. Kandydatka jest współautorką 7 publikacji na temat wpływu różnych czynników na uropatogenne szczepy bakterii. Badania wpływu ciprofloksacyny i kolistyny (I.A.2) na dystrybucję i morfologię domen kardiolipinowych, które wiążą kompleksy białkowe wpływające na podziały i transport przez błony komórek bakterii, wykazały, że subinhibicyjne dawki ciprofloksacyny, w przeciwieństwie do kolistyny, zaburzą rozkład domen kardiolipinowych w komórkach typu filamentów. Natomiast zmiany w strukturze błony komórkowej *E. coli* indukowane przez kolistynę mają wyłącznie charakter miejscowy.

Rozszerzając te badania określono wpływ, wykorzystywanych w profilaktyce zakażeń układu moczowego, ekstraktów roślinnych z liści brzozy brodawkowatej, pokrzywy zwyczajnej, borówki brusznicy, a także ziela skrzypu polnego, połonicznika

nagiego i marzanki wonnej na przeżywalność, czynniki wirulencji oraz formowanie biofilmu (I.A.3). Uzyskane z ziela połonicznika nagiego i liści borówki brusznicy ekstrakty wykazują najsilniejsze działanie hamujące wzrost *E.coli*, natomiast wszystkie zbadane, z wyjątkiem z liści borówki brusznicy zmieniają hydrofobowość powierzchni bakterii, a nadto wyodrębnione z liści brzozy brodawkowatej i pokrzywy zwyczajnej zmniejszają poruszanie się pałeczek. Ekstrakty wszystkich roślin hamują tworzenie się biofilmu.

Kontynuując badania w tym zakresie określono działanie wyciągu z żurawiny na wirulencję i tworzenie biofilmu przez 10 szczepów *Enterococcus faecalis* wyodrębnionych z moczu (I.A.7). Oznaczono MIC żurawiny metodą mikrorozcieńczeń w bulionie, liczbę komórek bakterii tworzących kolonię (cfu/ml), aktywność enzymatyczną (tworzenie lipazy, lecytyny, żelatynazy, DNazy), hemolityczną, hydrofobową i tworzenie biofilmu. Jak wynika z uzyskanych wyników wyciąg z żurawiny hamuje wzrost zbadanych bakterii (MIC 4.0 mg/mL), wpływa statystycznie znamienne ($p < 0.05$) u części z nich (1/3-1/2) na zmniejszenie aktywności enzymatycznej, hemolitycznej, hydrofobowej i u wszystkich ogranicza tworzenie biofilmu po 72 godz..

Trzy kolejne prace w tej grupie tematycznej (I.A.4; I.A.5; I.A.9) dotyczą działania triterpenów pentacyklicznych, tj. kwasu asjatowego i ursolowego, powszechnie występujących u roślin dwuliściennych na 20 szczepów *Escherichia coli* i 10 - *Enterococcus faecalis*. Określono MIC dla kwasów metodą mikrorozcieńczeń w podłożu płynnym, ich wpływ na przeżycie, morfologię, hydrofobowość, aktywność enzymatyczną komórek bakterii, a także wytwarzanie przez nie biofilmu. W badaniach tych wykazano, że większy wpływ na hamowanie wzrostu bakterii ma kwas asjatowy niż urosolowy. Obydwa zmniejszają wytwarzanie fimbrii P, spiralnych oraz α -hemolizyny, a także poruszanie się *E.coli*. Zbadane kwasy nie wpływają na hydrofobowość *E.faecalis*, natomiast zmniejszają syntezę lipazy, lecytynazy, α -hemolizyny, żelatynazy i DNazy; na hamowanie produkcji biofilmu większy wpływ ma kwas asjatowy niż urosolowy.

Niestety 2 z wyżej wymienionych prac (I.A.4; I.A.5) budzą moje wątpliwości, ponieważ dot. tego samego zagadnienia, które zostało podzielone na 2 części; za-

wierają one ten sam materiał poddany badaniom, w większości tymi samymi metodami (na 10 parametrów prace różnią się 3).

W odrębnej publikacji (I.A.6) przedstawiono wyniki działania tych kwasów, łącznie z ciprofloksacyną na szczep wzorcowy *E.coli* ATCC 700928 i 10 - wyizolowanych z moczu od pacjentów. MIC określono metodą mikrorozcieńczeń w podłożu płynnym zalecaną przez CLSI. W pracy tej wykazano, że sama ciprofloksacyna nie ma wpływa na biofilm, natomiast łącznie z kwasami asjatowym i ursolowym wykazują statystycznie znamienne ($P < 0.05$) hamowanie jego tworzenia i ułatwiają jego eradykację z powierzchni cewników.

Ad 5. Cztery publikacje dr KICIA stanowią opisy przypadków. Jeden z nich dotyczy osoby z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym, u której czynnikiem etiologicznym zaburzeń żołądkowo-jelitowych był rodzaj *Cryptosporidium* występujący u jeża (II.A.1) - *Cryptosporidium erinacei* n. sp. dotychczas nie opisywanym u ludzi.

W kolejnych dwu publikacjach przedstawiono pacjentów z czynnikami zwiększonego ryzyka rozwoju grzybicy, tj. HIV (II.B.1) i po przeszczepie szpiku kostnego (II.A.2). U kobiety zakażonej wirusem, leczonej z powodu trwającej przez kilka (8) miesięcy wodnistej biegunki, wykryto nieopisywany wcześniej w Polsce, a prezentowany w Indiach, Nigerii i Tunezji, w tej grupie chorych - *Cryptosporidium meleagridis*. Inny przypadek dotyczy kobiety poddanej immunosupresji w związku z wykonanym przeszczepem szpiku kostnego, u której po zabiegu wystąpiła biegunka, nudności i wymioty, doprowadzając do odwodnienia i niedożywienia. W wyniku przeprowadzonej diagnostyki w płwocinie, popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych i moczu wykryto genotyp D *Enterocytozoon bieneusi*.

Interesujący przypadek zarażenia geohelmindami, którego objawy pod postacią bólów brzucha, biegunki i kaszlu wystąpiły cztery tygodnie po powrocie z 5.cio miesięcznego pobytu w państwach Południowo-Wschodniej Azji, zaprezentowano w kolejnej publikacji (II.A.3). W kale wykryto jaja tęgoryjca dwunastnicy i larwy rabditopodobne węgorka jelitowego. Po miesiącu od zakończonego leczenia albendazo-

lem, a następnie trzy miesiące po kolejnym objawy nawróciły, co skłoniło klinicystów do uzupełnienia terapii iwermektyną i pozwoliło uzyskać wyleczenie.

Podsumowując badania dr MARTY KICIA muszę stwierdzić, że ich najważniejszymi osiągnięciami są:

- ✓ udowodnienie negatywnego wpływu braku AtFtsH14 na rozwój roślin;
- ✓ wykrycie, u ponad 1/5 zbadanych w Europie dzikich kotów i u 1/17 w Polsce domowych kotów i psów, potencjalnie patogennych dla człowieka protistów;
- ✓ opisanie, po raz pierwszy, występowania *E. bienersi* oraz *Encephalitozoon hellem* w odchodach gawronów;
- ✓ wykazanie występowania (2/3 przypadków) mieszaniny genotypów *P.jiroveci*, z kilkoma genami zajmującymi co najmniej 2 loci i najczęściej (85%) genotypami charakterystycznymi dla poszczególnych krajów Europy;
- ✓ określenie najczęstszych genotypów *P.jiroveci* (Pj1, Pj2) u pacjentów z różnymi chorobami płuc;
- ✓ potwierdzenie zasadności stosowania ekstraktów roślinnych w profilaktyce i leczenie zakażeń bakteryjnych układu moczowego, poprzez udowodnienie ich działania na *E.coli* i *E.faecalis*;
- ✓ zaprezentowanie dotychczas nie opisywanego u ludzi *Cryptosporidium erinacei* n. sp. oraz wykrycie po raz pierwszy w Polsce *Cryptosporidium meleagridis*.

Wyniki swoich badań Kandydatka przedstawiała także w postaci 39 prezentacji na zjazdach towarzystw naukowych w kraju (20) w: Krakowie, Lublinie, Łodzi, Szklarskiej Porębie, Warszawie, Wiśle oraz Wrocławiu, a także za granicą (19) w: Austrii (Wiedeń), Finlandii (Turku), Hiszpanii (Sewilla, Walencja), Korei (Daegu) oraz USA (Cincinnati).

Na uwagę zasługuje udział Kandydatki w realizacji 7 projektów naukowo – badawczych, w tym:

- * 3 - jako kierownik:
 - Zastosowanie metod molekularnych w celu identyfikacji i charakterystyki mikrosporydiów u pacjentów immunokompetentnych i leczonych immunosupresyjnie z choro-

bami nerek oraz oceny wpływu wybranych leków na proces inwazji mikrosporydiów w badaniach in vitro.

Narodowe Centrum Nauki, SONATA, DEC-2012/05/D/NZ6/00615 (2013-2017);

- *Identyfikacja i charakterystyka pasożytów z grupy Microsporidium oraz profil molekularny i skutki kliniczne mikrosporydiozy w kontekście aktywności klinicznej oraz leczenia immunosupresyjnego choroby Leśniowskiego-Crohna u dzieci.*

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Projekty dla Młodych Naukowców; Pbnm 191 (2015-2017);

- *Analiza wpływu czynników zaburzających podziały komórkowe na domeny kardioli-pinowe w komórkach bakterii E. coli oraz ich udział w powstawaniu odpowiedzi SOS i komórek typu persisters.*

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Projekty dla Młodych Naukowców; Pbnm 4 (2011-2013);

* 4 - jako wykonawca:

- *Profil kliniczny, immunologiczny oraz molekularny mikrosporydiozy i kryptosporidiozy u pacjentów żyjących z HIV.*

Polskie Towarzystwo Naukowe AIDS (2013-2015);

- *Częstość występowania, charakterystyka genotypowa oraz skutki kliniczne wywołane przez Blastocystis hominis u pacjentów zakażonych HIV i chorych na AIDS.*

Polskie Towarzystwo Naukowe AIDS (2013-2014);

- *Fizjologiczne i molekularne konsekwencje braku ekspresji mitochondrialnej AtFtsH4 proteazy u Arabidopsis.*

Komitet Badań Naukowych (obecnie NCN), KBN nr: 303350433 (2007-2009)

- *Wykorzystanie RNAi w genomice funkcjonalnej i biotechnologii roślin uprawnych.*

Komitet Badań Naukowych (obecnie NCN), Projekt Badawczy Zamawiany, PBZ-KBN-089/P06/2003 (2004-2007).

Należy dodać, że Kandydatka było 4. krotnie recenzentem prac nadesłanych do międzynarodowych czasopism (*Scientific Reports, Emerging Microbes & Infection, Transplant Infectious Disease, Parasite*)

* * *

3. OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO pt.

Charakterystyka pozajelitowych zarażeń mikrosporydiami u pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie i pacjentów z przewlekłym stanem zapalnym

W skład wymienionego Osiągnięcia wchodzi następujące publikacje:

- 1) Kicia M, Wesolowska M, Jakuszko K, Kopacz Z, Sak B, Květonova D, Krajewska M, Kváč M. Concurrent infection of the urinary tract with *Encephalitozoon cuniculi* and *Enterocytozoon bieneusi* in a renal transplant recipient. *J Clin Microbiol.* 2014; 52(5): 1780-2. doi: 10.1128/JCM.03328-13.
- 2) Kicia M, Wesolowska M, Kopacz Z, Jakuszko K, Sak B, Květonová D, Krajewska M, Kváč M. Prevalence and molecular characteristics of urinary and intestinal microsporidia infections in renal transplant recipients. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22(5): 462.e5-9.
- 3) Kicia M, Szydłowiec M, Cebulski K, Jakuszko K, Piesiak P, Kowal A, Sak B, Krajewska M, Hendrich AB, Kváč M, Kopacz Z: Symptomatic respiratory *Encephalitozoon cuniculi* infection in renal transplant recipients. *Int J Infect Dis.* 2018; DOI: 10.1016/j.ijid.2018.10.016.
- 4) Kicia M, Wesolowska M, Kopacz Z, Kváč M, Sak B, Sokulska M, Cebulski K, Hendrich AB, Pozowski A. Disseminated infection of *Encephalitozoon cuniculi* associated with osteolysis of hip periprosthetic tissue. *Clin Infect Dis.* 2018; 67(8): 1228-34.

Powyższe publikacje mają sumaryczny IF = 21,604 i liczbę punktów MNiSzW = 145. We wszystkich publikacjach Kandydatka jest pierwszym autorem i oceniła swój wkład w ich powstanie na 75-85%. Załączono oświadczenia pozostałych PT Autorów dot. ich wkładu w realizację poszczególnych prac, jednakże nie zawierają one określenia udziału procentowego każdej z osób w powstanie publikacji; mogłoby się więc okazać, że suma wszystkich udziałów przekracza 100%. Należy zauwa-

żyć, że zgodnie z *Kodeksem etyki pracownika naukowego* (Warszawa, 2016) "Autorstwo publikacji naukowej musi opierać się wyłącznie na twórczym i istotnym wkładzie w badania, a więc na znaczącym udziale w inicjowaniu idei naukowej, tworzeniu koncepcji oraz projektowaniu badań, na istotnym udziale w pozyskiwaniu danych, w analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz w istotnym wkładzie w szkicowanie i pisanie artykułu lub jego krytycznym poprawianiu z punktu widzenia zawartości intelektualnej" a także "...zbieranie danych, czy też ogólny nadzór nad grupą badawczą – same z siebie nie stanowią tytułu do współautorstwa". W tym aspekcie udział niektórych współautorów budzi duże wątpliwości, a niepotrzebnie zmniejsza znaczenie Habilitantki w przeprowadzonych badaniach.

Celem badań przedstawionych jako Osiągnięcie naukowe dr MARTY KICIA było scharakteryzowanie zarażeń wywołanych przez *Encephalitozoon* spp. oraz *Enterocytozoon bieneusi* u pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie oraz osób z przewlekłym stanem zapalnym w organizmie.

Pierwsza z publikacji (1) zaliczona przez Kandydatkę jako Osiągnięcie jest opisem przypadku, jedynym jak dotychczas na Świecie, jednoczesnego zarażenia *Encephalitozoon cuniculi* oraz *Enterocytozoon bieneusi* u biorcy przeszczepu nerki.

W kolejnej publikacji (2) Osiągnięcia zaprezentowano wyniki badań 86 pacjentów po przeszczepie nerek (10 dni-15 lat) otrzymujących leczenie immunosupresyjne, którzy byli leczeni w Klinice Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej UM we Wrocławiu. W kale i moczu tych osób poszukiwano mikrosporydiów w mikroskopie świetlnym, a także wysoko specyficznymi i czułymi metodami biologii molekularnej (izolowanie DNA, gniazdowy PCR z odpowiednimi parami starterów i kontrolami negatywną oraz pozytywną); analizy filogenetyczne wykonano wykorzystując oprogramowanie MEGA6, zaś drzewa filogenetyczne tworzone metodą największej zgodności (ML). Po wykryciu DNA mikrosporydiów obecność spor była potwierdzana barwieniem Calcofluorem M2R, a także znakowaniem przeciwciałami w immunofluorescencji bezpośredniej. U 15,1% zbadanych pacjentów wykryto mikrosporydnie mikroskopowo, zaś u 25,5% - wyizolowano DNA mikrosporydiów, przy czym blisko 2.krotnie częściej w moczu niż kale; w 1/3 przypadków były one obecne zarówno w

moczu, jak i kale. W większości przypadków (59%) udało się zidentyfikować genotyp II *Encephalitozoon cuniculi*, rzadziej ((23%) genotyp D - *Enterocytozoon.bieneusi*; u pozostałych chorych wykryto obydwa patogeny. Zastosowanie testu χ^2 i dokładnego testu Fishera pozwoliło na stwierdzenie zależności statystycznie znamiennej ($p=0,02$) jedynie pomiędzy zarażeniem mikrosporydiami a występowaniem biegunki i podwyższonej temperatury ciała. Z danych piśmiennictwa wynika, że mikrosporidia są odpowiedzialne głównie za choroby żołądkowo-jelitowe, zwłaszcza wśród osób z obniżoną odpornością, aczkolwiek mogą też dotyczyć osób z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym; prewalencja tych eukariotycznych organizmów pasożytniczych kręgowców i bezkręgowców waha się od 0,1% do 50% . Potwierdziły to badania Habilitantki, z których wynika, że istnieje zależność statystyczna pomiędzy obecnością zarażenia *Encephalitozoon cuniculi* oraz *Enterocytozoon.bieneusi* a objawami ze strony przewodu pokarmowego, pomimo uzyskania w pracy stanowiącej Osiągnięcie, wyraźnej predylekcji tych mikrosporydii do układu moczowego. Publikacja powyższa ma istotne znaczenie praktyczne, ponieważ wskazuje na konieczność poszukiwania patogenów zbadanych przez Kandydatkę u osób o obniżonej odporności nie tylko w przewodzie pokarmowym, ale także w drogach moczowych.

Interesujące wyniki uzyskała Kandydatka w badaniach dotyczących poszukiwania w drogach oddechowych zarażenia *Encephalitozoon cuniculi* u pacjentów po transplantacji nerek i u leczonych z powodu różnych chorób dolnych dróg oddechowych (publikacja 3 Osiągnięcia). Patogena poszukiwano, po wcześniejszym badaniu w kierunku zarażenia *Pneumocystis jiroveci* i *Mycobacterium tuberculosis*, w płwocinie 72 biorców nerek (5 dni-19 lat), przyjmujących najczęściej po kilka leków immunosupresyjnych, będących pod opieką Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej UM we Wrocławiu oraz w popłuczynach oskrzelowych, uzyskiwanych podczas rutynowej bronchoskopii od 105 pacjentów Kliniki Pulmonologii i Nowotworów Płuc UM we Wrocławiu, hospitalizowanych głównie z powodu raka płuc (41%), a także POChP (11,4%), śródmiąższowych zmian w płucach (10,5%) i innych chorób dolnych dróg oddechowych i leczonych preparatami immunosupresyjnymi. *Encephalitozoon cuniculi* wykryto u 8,3% zbadanych biorców nerek i u 1,9% - ze zmianami w płucach. U pacjentów poddanych transplantacji wykazano zależność statystycznie zmienną

($p=0,046$) pomiędzy objawami podmiotowymi i przedmiotowymi klinicznymi/radiologicznymi a obecnością *E. cuniculi*; szkoda, że brak jest w pracy szczegółowych danych na ten temat. Brak mikrosporidium w płwocinie, a wykrycie ich w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych i płynie uzyskanego z jamy opłucnej wymaga, moim zdaniem, konieczności potwierdzenia, czy materiał zbadany jako płwocina jest nim w rzeczywistości. Słusznie bowiem Habilitantka zauważyła, że może dochodzić wówczas do osiągnięcia wyników fałszywie ujemnych i niedoszacowania prevalencji.

Oddzielnie przeprowadzono badania dotyczące zarażeń wywoływanych przez *Encephalitozoon cuniculi* u pacjentów z osteolizą po protezoplastyce stawu biodrowego (publikacja 4 Osiągnięcia). Osteoliza polegająca na zniszczeniu struktury kości, zarówno jej istoty gąbczastej, jak i zbitej, rozwija się najczęściej w procesach zapalnych, rozwijających się m.in. w wyniku działania czynników infekcyjnych. Badaniami objęto 53 chorych, w tym 30 z powodu pierwotnej całkowitej artroplastyki stawu biodrowego oraz 23 z osteolizą okołoprotezową, hospitalizowanych na Oddziale Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu. Do wykrycia mikrosporidiów pobierano kał, mocz oraz u pacjentów w trakcie zabiegu pierwotnego wstawiania protezy - fragmenty torebki stawowej i błony maziowej, a podczas reoperacji - zmienione tkanki wokół protezy, które poddawano także badaniom mikrobiologicznym dla wykrycia wirusów, bakterii i grzybów. Oznaczano również wybrane parametry wskazujące na stan zapalny w organizmie (m.in. morfologia, OB, poziom CRP). DNA *Encephalitozoon* zostało wykryte w próbkach tkanek u 1 (3,3%) chorego poddanemu pierwotnej protezoplastyce i w próbkach tkanek u 9 (39%) z powikłaniem w postaci osteolizy; w tej grupie również DNA było obecne w 7 przypadkach w moczu i w 1 - w kale. Należy podkreślić, że u żadnego z pacjentów nie występowały objawy sugerujące mikrosporydiozę.

Podsumowując cykl prac składający się na Osiągnięcie naukowe należy stwierdzić, że ich najważniejszymi osiągnięciami są:

- określenie prevalencji mikrosporydiów u chorych w stanie immunosupresji i z wybranymi stanami zapalnymi w organizmie;
- udowodnienie częstego pozajelitowego występowania mikrosporydiów;

- zwrócenie uwagi na fakt, że mikrosporydia muszą być brane pod uwagę jako czynniki etiologiczne chorób różnych narządów;
- wykazanie przydatności metod molekularnych do wykrywania mikrosporydiów, oznaczania ich materiału genetycznego w różnych materiałach biologicznych pochodzących od pacjentów.

Badania dr MARTY KICIA zaprezentowane w postaci Osiągnięcia naukowego dzięki aktualności tematu, doborowi materiału i sumiennej dokumentacji są wyrazem znajomości przedmiotu badań, właściwego rozumowania diagnostycznego i dojrzałości w dociekaniach naukowych. Przedstawione prace można uznać za oryginalny wkład do biologii medycznej - parazytologii i mykologii.

Pragnę podkreślić, iż wobec faktu opublikowania prac wchodzących w skład Osiągnięcia naukowego w czasopismach recenzowanych, o wysokim współczynniku oddziaływania, ich wartość naukowa nie może budzić jakichkolwiek wątpliwości.

Moim zdaniem bardzo dobrym wstępem do prac oryginalnych mogłoby stanowić opracowanie przeglądowe, wprowadzające do zagadnienia mikrosporydiów i mikrosporydiozy. Ponadto dobrze byłoby oceniać, czy materiał uzyskany jako plwocina jest nią rzeczywiście. Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia, jakie wystąpiły w polskiej wersji opracowania, a mianowicie:

- nie ma infekcji: rozsianej, chronicznej, mikrosporoidalnej, jest natomiast infekcja: uogólniona (wieloogniskowa), przewlekła, wywołana mikrosporydiami;
- nie ma tkanki okołoprotezowej, bo jest tylko tkanka nabłonkowa, łączna, mięśniowa i nerwowa;
- uzyskujemy nie popłuczyny oskrzelowe, lecz oskrzelowo-pęcherzykowe;
- przy omawianiu badań zakończonych nie używamy terminu badanych, lecz zbadanych, bo to już to się stało faktem dokonany;
- nie można powtarzać czterokrotnie tego samego słowa w jednym zdaniu.

* * *

4. CHARAKTERYSTYKA DOROBKU DYDAKTYCZNEGO

Dr n. biol. MARTA KICIA jest doświadczonym nauczycielem akademickim; prowadzi zajęcia z zakresu: biologii medycznej (2009-2014) ze studentami kierunku die-

tetyka, parazytologii i biologii molekularnej dla kierunku lekarskiego, a także biologii molekularnej i genetyki ze studentami kierunku lekarsko-dentystycznego.

Oprócz prowadzenia zajęć dydaktycznych Kandydatka była promotorem pomocniczym w dwu rozprawach doktorskich i promotorem dwu, zaś opiekunem naukowym - 9.ciu prac magisterskich zrealizowanych w Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej UM we Wrocławiu. Należy z uznaniem odnotować, że Habilitantka była opiekunem 2 osób realizujących nauczanie w ramach Indywidualnego Toku Studiów, a także 2 studentów z zagranicy odbywających praktyki studenckie. DR KICIA jest też opiekunem Studenckiego Koła Naukowego Parazytologii Lekarskiej.

Oprócz powyższej działalności Kandydatka zaangażowana jest także w popularyzację nauki; bierze czynny udział w Dolnośląskim Festiwalu Nauki (DFN) pod patronatem Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

* * *

5. DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA

Habilitantka jest członkiem Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego i Polskiego Towarzystwa Naukowego AIDS (od r. 2013), a także Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (od r. 2007).

Dr KICIA była członkiem Komitetu Organizacyjnego 4 międzynarodowych konferencji - International Forum on Medical Parasitology we Wrocławiu (r. 2014, 2015, 2016 i 2018).

Od r. 2012 do chwili obecnej Kandydatka pełni funkcję sekretarza publicznych obron doktorskich, a także sekretarza w Komisji Do Spraw Zatrudnienia Nauczycieli Akademickich na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

* * *

6. DZIAŁANIA INNOWACYJNE I WDROŻENIOWE

W swoim dorobku Habilitantka nie posiada patentów międzynarodowych lub krajowych, wynalazków, które uzyskały ochronę lub były wystawione na międzynarodowych lub krajowych wystawach lub targach.

* * *

7. WSPÓŁPRACA KRAJOWA I MIĘDZYNARODOWA

Kandydatka odbyła staże:

a. zagraniczne: * Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, Republika Czeska (2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018);

* Instituto de Higiene e Medicina Tropical Universidade Nova de Lisboa, Portugalia (2014, 2015, 2018);

b. krajowe: * Zakład Parazytologii Tropikalnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (2012);

*Zakład Inżynierii Komórkowej i Transformacji Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (IHAR) w Radzikowie (2004).

Badania naukowe dr MARTA KICIA realizuje we współpracy:

- międzynarodowej z: * Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Czeske Budejovice; * Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), Universidade Nova de Lisboa w Lizbonie; * Respiratory Clinical Research Group and Pneumocystis Research Laboratory, University of Chile School of Medicine, Santiago, Chile;

- krajowej z: * jednostkami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, Katedra i Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc, Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, III Katedra i Klinika Pediatrii, Immunologii i Reumatologii Wieku Rozwojowego, II Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia); * Katedrą Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, * Zakładem Parazytologii, Instytutu Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego; * Oddziałem Ortopedyczno-Urazowym Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu.

* * *

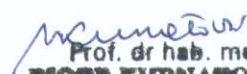
8. WYRÓŻNIENIA I ODZNACZENIA

Habilitantka otrzymała m.in. za osiągnięcia naukowe Nagrodę Zespołową (r. 2015) i Indywidualną (lata 2015, 2017, 2018) Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, wyróżnienie w konkursie prac naukowych na V Ogólnopolskim Zjeździe Kół Naukowych Biotechnologii w Olsztynie (r. 2003), a także jako promotor nagrodę przyznaną Jej magistrantce p. Kindze Kubiak w konkursie, na najlepszą pracę magisterską z zakresu medycznej diagnostyki laboratoryjnej napisane i obronione w latach 2012-2013, ogłoszonym przez Fundację Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjnej w Krakowie oraz Izbę Producentów i Dystrybutorów Diagnostyki Laboratoryjnej.

* * *

9. WNIOSEK KOŃCOWY

Biorąc pod uwagę całokształt dorobku naukowego, a w szczególności wartość poznawczą i praktyczną Osiągnięcia naukowego dr n. biol. MARTY KICIA stwierdzam, że Kandydatka po doktoracie wykazała dobre przygotowanie teoretyczne i praktyczne do pracy naukowej, jest badaczem o znacznym dorobku naukowym w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie - biologia medyczna. Stawiam przeto wniosek do Komisji Habilitacyjnej o dopuszczenie dr n. biol. MARTY KICIA do dalszych etapów postępowania.



Prof. dr hab. med.
PIOTR KURNATOWSKI

Łódź, 06.05.2019 r.