

Ocena

całości kształtu dorobku naukowego, działalności dydaktycznej i organizacyjnej oraz osiągnięcia naukowego wskazanego w formie cyklu publikacji powiązanych tematycznie pt. „Rola zegarów peryferycznych w regulacji rytmów okołodobowych” w postępowaniu dotyczącym nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego dr n. biol. Mileny Anny Damulewicz

1. Przebieg pracy zawodowej

Dr n. biol. Milena A. Damulewicz ukończyła studia w Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie w roku 2007 na kierunku Biologia na Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Instytut Zoologii, Zakład Cytologii i Histologii. Stopień naukowy doktora nauk biologicznych uzyskała w 2012 roku, nadany uchwałą Rady Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, na podstawie rozprawy doktorskiej pt. *„Lokalizacja i funkcja kryptochromu w układzie wzrokowym *Drosophila melanogaster*”*. Promotorem pracy była Pani prof. dr hab. Elżbieta Pyza. W latach 2009-2010 dr Milena A. Damulewicz była zatrudniona jako pracownik techniczny w Instytucie Nauk o Środowisku w UJ. W roku 2013 Pani doktor odbyła staż podoktorski w ramach realizowanego projektu *“Establishment of *Pyrrhocoris apterus* as a new model species for chronobiology”* European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013, grant agreement No 316304) w zespole badawczym dr Davida Dolezela, Department of Molecular Chronobiology, Institute of Entomology, Czech Academy of Science, Ceske Budejovice, Czechy. Następnie w latach 2013-16 była wykonawcą w projekcie pt. *“Rola hemoksygenazy w regulacji zegara okołodobowego u *Drosophila melanogaster*”* finansowanego przez NCN, grant OPUS Nr UMO 2012/07/B/NZ3/02908 w zespole badawczym prof. dr hab. Elżbiety Pyzy, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, UJ. W latach 2015-17 dr Milena A. Damulewicz była zatrudniona na stanowisku asystenta, a w latach 2017-18 na stanowisku adiunkta na Wydziale Biologii w UJ. W latach 2018-19 była kierownikiem projektu pt. *„Rola autofagii w regulacji zegara okołodobowego u *Drosophila melanogaster*”*, finansowanego przez NCN grant Opus Nr 2017/27/B/NZ3/00859, Wydział Biologii, UJ. Od roku 2020 Habilitantka zatrudniona jest na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biologii i

Obrazowania Komórki w Instytucie Zoologii i Badań Biomedycznych na Wydziale Biologii w Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie.

2. Dorobek naukowy

Według analizy bibliometrycznej, Kandydatka jest autorem/współautorem łącznie 31 publikacji, w tym 25 (po uzyskaniu stopnia doktora) prac oryginalnych i przeglądowych w czasopismach posiadających współczynnik oddziaływania (*Impact Factor*; IF), uzyskując za nie sumarycznie 139,761 (134,818 po doktoracie), wliczając dwie prace, które ukazały się po złożeniu dokumentacji przez Habilitantkę. Łączna punktacja MEiN opublikowanych prac wynosi 3320 (3150 po uzyskaniu stopnia doktora) punktów. Habilitanta jest autorem/współautorem 42 doniesień zjazdowych. Indeks H wynosi 11, zaś liczba cytowań bez autocytowań to 1593 wg Web of Science Core Collection (WoS) na dzień 08.05. 2023 roku. Warto jednak nadmienić, że jedna z prac, w której dr Milena Damulewicz jest współautorką jest cytowana 1320 (Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, Jozkowicz A, Dulak, Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism, *J.Cell Mol Life Sci.* 2016; 73(17):3221-47).

Dorobek naukowy jest dobry pod kątem liczby publikacji jak i samej punktacji tych prac. Warto nadmienić, że liczba cytowań i indeks H świadczy o zainteresowaniu czytelników prowadzoną przez dr Milenę A. Damulewicz tematyką badań. Cztery prace zostały przedstawione w cyklu „Osiągnięcia naukowe”. Sumaryczny IF opublikowanych prac z tego cyklu wynosi 20,546 a łączna punktacja MEiN to 480.

Opinia o cyklu prac stanowiących „Osiągnięcia naukowe” (Osiągnięcia) w myśl Ustawy.

Cykl prac wchodzących w skład Osiągnięcia jest zatytułowany „*Rola zegarów peryferycznych w regulacji rytmów okołodobowych*”. Głównym obszarem badawczym dr Mileny A. Damulewicz są zagadnienia związane z oceną w jaki sposób oscylatory peryferyczne wpływają na regulację rytmiki okołodobowej. W cyklu Osiągnięcia Habilitantka przedstawiła prace dotyczące oscylatorów, które mogą bezpośrednio wpływać na regulację snu i aktywność lokomotoryczną. Ponadto, na podstawie wyników zmiany w ekspresji genów w różnych porach doby wykazała, że autofagia w gleju zachodzi w sposób rytmiczny, a jej poziom jest wyższy w godzinach nocnych. Rytmu okołodobowe są generowane przez system oscylatorów-centralny znajdujący się w mózgu oraz obwodowe zlokalizowane w różnych komórkach między innymi w siatkówce czy komórkach glejowych.

Podstawowym modelem w badaniach, które Habilitantka przedstawiła jako Osiągnięcia jest *Drosophila melanogaster*, u której mechanizm zegara jest dość dobrze poznany. Tematyka jaką zajmuje się Pani doktor jest dość istotna i wnosi znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej. Wydaje się, że uzyskane w badaniach *D. melanogaster* wyniki pozwolą na lepsze zrozumienie mechanizmu(ów) regulacji okołodobowych procesów fizjologicznych u ssaków, w tym również u ludzi.

Wszystkie prace, które Habilitantka przedstawił jako „Osiągnięcia” były recenzowane, dlatego też nie będę ich oceniał po raz drugi lub nawet trzeci. Kandydatka do nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne dr Milena A. Damulewicz przygotowała wszystkie niezbędne do tego celu dokumenty i materiały. Zaprezentowane Osiągnięcia habilitacyjne pt. „Rola zegarów peryferycznych w regulacji rytmów okołodobowych” obejmuje cykl czterech powiązanych tematycznie publikacji, opublikowanych w latach 2017-2022 o sumarycznym IF 20,546 i łącznej punktacji wynoszącej MNiSW 480 (wartości wskaźników na dzień 9 września 2022 roku). Załączono oświadczenia współautorów o udziale w realizacji poszczególnych prac. W przedstawionych czterech powiązanych tematycznie publikacjach a składających się w myśl Ustawy na Osiągnięcia, Habilitantka jest pierwszym i korespondencyjnym autorem. Jej wkład w każdej z opublikowanych prac jest nie mniejszy niż 60%. Oznacza to, że Jej udział w powstaniu prac był oczywiście dominujący.

Pierwsza praca cyklu, którą w kolejności wskazała Habilitantka została opublikowana w 2020 pt. „*Communication Among Photoreceptors and the Central Clock Affects Sleep Profile*”. Ukazała się w *Frontiers in Physiology* 11:993 (IF 4,37; MEiN 100 punktów; 6 cytowań wg WoS). Oscylatory znajdujące się w fotoreceptorach siatkówki mogą bezpośrednio wpływać na regulację pracy neuronów zegara i w efekcie regulować sen. Celem ocenianej pracy było zbadanie roli różnych fotoreceptorów i ich ukierunkowania postsynaptycznego w regulacji snu i aktywności lokomotorycznej. Autorzy wskazują, że zaburzenie pracy zegara w fotoreceptorach siatkówki zwiększa poziom snu zarówno w trakcie dnia jak i w nocy. Wykazano, że zmiany te są spowodowane między innymi zmienionym wzorem zawartości białka presynaptycznego Bruchpilot (BRP) w fotoreceptorach oraz zmniejszoną zawartością PER w neuronach zegara. Autorzy wykazali, że oscylatory zlokalizowane w fotoreceptorach posiadających ekspresję rodopsyny (Rh) 1, 3 oraz 6 są odpowiedzialne za regulację poziomu snu w nocy, natomiast te, które produkują Rh 5 modulują sen w ciągu całej doby. W tej pracy również przedstawiono, że połączenia synaptyczne tworzone pomiędzy oczkami Hofbauer-

Buchnera (HB) a neuronami zegara wykazują plastyczność okołodobową, synapsy są aktywne na początku dnia, natomiast w ciągu dnia i w nocy ulegają degradacji.

Druga praca cyklu pt. "*Cryptochrome Is a Regulator of Synaptic Plasticity in the Visual System of Drosophila melanogaster*" została opublikowana w *Frontiers in Molecular Neuroscience* w roku 2017 (IF 5,639; MEiN 140 punktów; 14 cytowań wg WoS). Celem tej pracy była ocena udziału białka kryptochromu (CRY) w regulacji plastyczności synaptycznej w układzie wzrokowym i modulacji wrażliwości fotoreceptorów w odpowiedzi na światło. W pracy tej przedstawiono, że regulacja zawartości białka BRP w trakcie dnia jest zależna od CRY. Wykazano, że dochodzi do powstawania bezpośrednich kompleksów tych dwóch białek i tworzą się specyficznie, tylko w zakończeniach fotoreceptorów siatkówki. Zawartość białka BRP zmienia się cyklicznie w ciągu doby. Autorzy wykazali, że całkowita zawartość białka BRP zmienia się w zależności od obecności i aktywności CRY oraz światła. Degradacja białka BRP zachodzi w obecności CRY tylko w specyficznych typach komórek-fotoreceptory siatkówki i zależna jest od rytmu dobowego.

Trzecia praca cyklu w kolejności podanej przez Habilitantkę "*The role of glia clocks in the regulation of sleep in Drosophila melanogaster*", *Journal of Neuroscience*, 2022 (IF 6,167; MEiN 140 punktów, 1 cytowanie wg WoS) przedstawia rolę oscylatorów zlokalizowanych w komórkach glejowych w regulacji snu. Wykorzystanie w tej pracy zwierząt transgenicznych z nadekspresją zmutowanej formy białka CYC w wybranych komórkach, wykazało zatrzymanie rytmicznych zmian ekspresji genów i obniżenie zawartości białek zegara. Autorzy przedstawiają, że zegar w komórkach glejowych pełni istotne funkcje w regulacji poziomu snu w cyklu dobowym. Wykazują, że za utrzymanie aktywności w trakcie dnia odpowiada glej astrocytarny, glej chiazmy wzrokowej i glej epitelialny, natomiast za obniżenie poziomu snu w nocy tylko glej epitelialny. Glej perineurialny nie bierze udziału w regulacji snu i aktywności. Ponadto, kontakty synaptyczne utworzone między zakończeniami fotoreceptorów a nabłonkowymi komórkami glejowymi aktywują szlak promujący budzenie.

Ostatnia praca wchodząca w skład Osiągnięcia pt. "*Glia – neurons cross – talk regulated through autophagy*", ukazała się w *Frontiers in Physiology* w roku 2022 (IF 4,37, MEiN 100). Badania zostały przeprowadzone nad rolą gleju w regulacji rytmów okołodobowych. Autorzy na podstawie wyników ekspresji genów w cyklu dobowym wykazali, że autofagia w gleju zachodzi w sposób rytmiczny, a jej poziom jest wyższy w trakcie godzin nocnych. Spowolnienie autofagii w gleju poprzez wyciszenie ekspresji genów *atg5* i *atg7* powoduje zwiększony poziom snu w nocy. Wykazano, że procesy degradacyjne w obrębie astrocytów regulują behavior, który jest związany z kontrolą okołodobowej plastyczności neuronalnej w

zakończeniach wypustek neuronów sLNv w grzbietowej części mózgu. Utrzymanie prawidłowego rytmu zmian stopnia rozgałęzienia tych wypustek jest zależne od procesu autofagii w astrocytach. Autorzy sugerują, że może to być związane z regulacją przebudowy błony komórkowej, zmianami kształtu i wielkości komórek glejowych, niezbędnymi do utrzymania właściwej struktury rozgałęzień dendrytów neuronów sLNv.

Podsumowując uważam, że przedstawione prace dotyczące oscylatorów, które mogą bezpośrednio wpływać na regulację snu i aktywność lokomotoryczną, wyników zmiany w ekspresji genów, zawartości całkowitych białek oraz ich wzajemnych relacji w różnych porach doby wchodzące w skład Osiągnięcia w rozumieniu Ustawy, stanowią wartościowy i istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej. Cztery prace wchodzące w skład Osiągnięcia cytowane są 21 razy wg WoS na dzień 8 maja 2023 roku.

Jakkolwiek, chciałbym nadmienić, że nagroda Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii została już przyznana w roku 2017 i związana z czynnikami odpowiedzialnymi za regulację cyklu dobowego. Między innymi jednym z najważniejszych czynników dla naszego mózgu jest światło, „dawca czasu”, które pozwala na generowanie rytmów.

W przygotowanych przez Kandydatkę dokumentach znajdują się błędy edytorskie typu kropki, przecinki, czy urwane wyrazy. Oprócz podobnych błędów, w samym Autoreferacie znajdują się również niefortunne sformułowania merytoryczne typu „...ekspresja białek ...”. W dodatku zastanawiająca jest kolejność ułożenie prac w cyklu Osiągnięcia, gdzie pierwsza wymieniona i omawiana przez Habilitantkę została opublikowana w 2020, a druga w 2017 zaś pozostałe w 2022 roku. Z drugiej strony warto podkreślić, że Kandydatka zna i wykorzystuje w swojej pracy naukowej wiele metod i technik z pogranicza biologii molekularnej, co potwierdzają opublikowane wyniki badań. Drobne błędy lub przoczenia i moje spostrzeżenia, w żadnym stopniu nie umniejszają dorobku naukowego Osiągnięcia w myśl Ustawy.

Ocena pozostałej części dorobku naukowego

Dr Milena Anna Damulewicz jest współautorem 27 prac oryginalnych i przeglądowych poza cyklem 4 publikacji wchodzących w skład Osiągnięcia (IF 20,546, MEiN 480 punktów). Ich łączny IF wynosi 119,215 (MEiN 2840 punktów). Publikacje powstały we współpracy z naukowymi ośrodkami polskimi i zagranicznymi, dotyczą głównie badań nad zegarem biologicznym z wykorzystaniem modelu owadziego; roli hemoksygenazy (HO) w regulacji zegara biologicznego; czy wpływem modyfikowania zawartości białka BRP

indukowane mutacją *cry* na zmiany ultrastruktury miejsca aktywnego synapsy oraz ilości uwalnianych pęcherzyków synaptycznych.

Warto podkreślić, że Habilitantka była i jest kierownikiem, głównym wykonawcą i wykonawcą projektów realizowanych w ramach NCN. Ponadto, współpracowała w ramach realizowanych grantów z ośrodkami naukowymi z Argentyny, Włoch i Czech, czego owocem są wspólne publikacje. Sumarycznie uczestniczyła w siedmiu projektach po doktoracie i trzech przed uzyskaniem stopnia doktora. Wykonywała recenzje dla czasopism naukowych posiadających punktację IF, *Frontiers in Physiology*, *Scientific Reports* oraz *Cellular and Molecular Life Science* co niewątpliwie wpisuje się w Jej dokonania o charakterze naukowym.

3. Działalność dydaktyczna

Pani dr Milena A. Damulewicz już w trakcie studiów doktoranckich oraz zatrudnienia w UJ prowadziła kursy dla studentów kierunków Biologia i Neurobiologia: Podstawy mikroskopowania, Analizę instrumentalną komórki, Techniki mikroskopowe w badaniach neurobiologicznych, Techniki neuroanatomiczne oraz wykład Mózg człowieka-rozwoj i ewolucja. Jest w trakcie przygotowania swojego kursu autorskiego: *Drosophila* jako model w badaniach neurobiologicznych. Od 2020 roku pełni funkcję opiekuna studentów drugiego stopnia, kierunek Neurobiologia.

Kandydatka wypromowała 6 prac licencjackich i jest opiekunem naukowym dwóch prac licencjackich oraz dwóch prac magisterskich. Pełniła funkcję promotora pomocniczego w dwóch przewodach doktorskich (dr Bartosz Doktor, 2020; dr Bernadetta Bilka, 2022). W tym zakresie nie można mieć żadnych zastrzeżeń.

4. Działalność organizacyjna i popularyzacja nauki

Pani doktor była współorganizatorem Festiwalu Nauki, Nocy Biologów oraz Nocy Naukowców. Od 2019 roku jestem członkiem Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika, pełniąc funkcję Sekretarza Zarządu. Habilitantka jest członkiem Society for Research on Biological Rhythms. Uczestniczyła w organizacji międzynarodowej Konferencji Neurofly 2018, która odbywała się w Krakowie, pełniąc funkcję sekretarza. Organizowała sesję chronobiologiczną w ramach Konferencji FENS2021. Warto nadmienić, że współpracuje z kołem studenckim Neuronus, dla którego prowadziła wykłady, a także nagrała podcast dostępny online na NeuronuSound. Pani dr Milena Damulewicz jest autorem prac popularnonaukowych w czasopiśmie *Wszechświat* i *Kosmos*. Uważam, że Habilitantka posiada

doświadczenie w działalności organizacyjnej i popularyzowaniu nauki, co stanowi istotny element pracy każdego naukowca.

Podsumowanie:

Dr Milena Anna Damulewicz legitymuje się dobrym dorobkiem naukowym. Jest współautorem 31 prac naukowych w czasopismach z i bez IF. Habilitantka jest autorem/współautorem 42 doniesień zjazdowych, uczestnicząc w konferencjach o zasięgu ogólnopolskim i międzynarodowym. Tematyka dorobku Kandydatki jest zwarta i spójna, dotyczy głównie nowatorskich badań z zakresu poszukiwania mechanizmów wpływających na regulację snu i aktywność lokomotoryczną. Osiągnięcia naukowe w myśl Ustawy stanowi zbiór czterech prac oryginalnych, w których jest pierwszym i zarazem korespondencyjnym Autorem. Prace te zostały wskazane przez Kandydata z ogólnego zbioru publikacji. Współczynnik oddziaływania tego cyklu wynosi 20,546, liczba punktów MEiN 480, a łączna liczba cytowań tych czterech prac to 21. Uważam, że Osiągnięcia stanowią oryginalny i znaczący wkład w rozwój nauk biologicznych. Dodatkowo, Habilitantka posiada w swoim dorobku prace, które wnoszą istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej, realizowała badania projektowe i grantowe oraz wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w wielu ośrodkach naukowych. Oczywiście plany na przyszłość nie są uwzględniane w ocenie Habilitantki, jakkolwiek są bardzo obiecujące i ambitne, gdyż Habilitantka chciałaby w swoich badaniach zająć się progresją procesów neurodegeneracyjnych w starzeniu, czy wpływem zanieczyszczenia światłem na rozwój choroby Parkinsona.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu całokształtu dorobku naukowego, dydaktyczno-organizacyjnego i popularyzacji nauki, stwierdzam, że Habilitantka spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. Na podstawie analizy przedłożonej dokumentacji, tj. dorobku naukowego oraz rozprawy habilitacyjnej pt. „*Rola zegarów peryferycznych w regulacji rytmów okołodobowych*” w myśl Ustawy, Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce; Dz. U. 2018. Poz. 1668 z dnia 20 lipca 2018r., wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki biologiczne w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk biologicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie Pani dr Mileny Anny Damulewicz do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Z poważaniem,

