Dziekanat MWB UG i GUMed
Wpłynęło dnia 25.05.2016
L.dz./nr 18/2016

UNIWERSYTET GDAŃSKI

IN MARI VIA CUA

Prof. dr hab. Jarosław Marszałek
Pracownia Biochemii Ewolucyjnej
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG/GUMed
ul. Antoniego Abrahama 8, 80-307 Gdańsk
tel. +48 58 523 6313
tel./fax. +48 58 523 6427
E-mail: jaroslaw.marszalek@biotech.ug.edu.pl

25.05.2016 r

Ocena osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku dr Mariusza Grinholca w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia.

Ocena osiągnięcia naukowego: Dr Mariusz Grinholc przedstawił jako osiągnięcie naukowe będące podstawą do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego zbiór siedmiu oryginalnych publikacji naukowych, który zatytułował: "Opracowanie strategii prowadzących do skutecznej walki ze zjawiskiem szczepowo-zależnej odpowiedzi drobnoustrojów na inaktywację fotodynamiczną". Prace te zastały opublikowane w specjalistycznych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, publikujących prace dotyczące zastosowywania metod fotochemicznych w biologii oraz w czasopismach publikujących prace z zakresu mikrobiologii klinicznej i środowiskowej. We wszystkich siedmiu pracach dr Mariusz Grinholc jest autorem korespondującym a jego wkład w przygotowanie publikacji jest największy pośród współautorów każdej z tych prac.

Nie ma więc wątpliwości, że dorobek publikacyjny habilitanta jest znaczny oraz, że w przygotowaniu składających się nań publikacji habilitant miał wiodącą rolę. Tematyka prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe jest spójna i dotyczy zastosowania metody fotodynamicznej do inaktywacji drobnoustrojów przy czym we wszystkich pracach obiektem badań są różne szczepy *Staphylococcus aureus.* Główny problem badawczy tych publikacji wynika z obserwacji, że nie wszystkie szczepy tego gatunku bakterii są w takim samym stopniu wrażliwe na inaktywację fotodynamiczną indukowaną obecnością różnych związków fotouczulających oraz światła o różnych długościach fali. Habilitant w ramach prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe wykazał, że zjawisko oporności jest zależna od czynników genetycznych. Warianty genetyczne S. aureus są w różnym stopniu oporne na inaktywację foto-dynamiczną.

W pierwszej publikacji wykazał brak związku pomiędzy poziomem endogennych porfiryn, keratynoidów a także odpornością na stres oksydacyjny a wrażliwością na inaktywację fotodynamiczną. Wykazał również, że wirulencja szczepu *S. aureus* nie jest czynnikiem ograniczającym jego wrażliwość na inaktywację foto-dynamiczną. W oparciu o uzyskane wyniki zaproponowano, że strategia inaktywacji drobnoustrojów powinna opierać się na opracowaniu mieszaniny związków fotouczulających tak aby maksymalizować efekt pomimo odporności poszczególnych szczepów. W kolejnej pracy wykazał, że nanocząsteczki srebra mogą być użyte razem z terapią foto dynamiczną do inaktywacji S. aureus.

W trzeciej publikacji wykazał, że warianty genu *agr* odpowiedzialnego za globalną regulację metabolizmu *S. aureus* w tym na systemy genetyczne odpowiedzialne za wirulencję, produkcję biofilmu oraz równowagę oksydacyjną wpływają na wrażliwość poszczególnych szczepów na inaktywację fotodynamiczną. Z drugiej strony szczepy niosące te same polimorfizmy *agr* odpowiadały w różny sposób na inaktywację fotodynamiczną sugerując, że podłoże odporności wynika z przyczyn innych niż zmiany genetyczne w obrębie *agr*.

Publikacja czwarta przedstawia wyniki analizy oporności na inaktywację fotodynamiczną klonów gronkowca niosących różne warianty genetyczne kasety chromosomalnej *mec* warunkującej wieloooporność komórek bakteryjnych. Wykazano w niej brak korelacji pomiędzy opornością na inaktywację fotodynamiczną a typem kasety *mec*. Wykazano również, że oporność na inaktywację fotodynamiczną koreluje z innymi markerami genetycznymi na przykład z przynależnością komórek gronkowca do klonów epidemiologicznych CC30 kodujących wariant genu *spa* (staphylococcal protein A) znanych jako t015 i t051. W kolejnej publikacji ponownie pokazano brak korelacji pomiędzy opornością na inaktywację fotodynamiczną a stopniem lekooporności drobnoustrojów. Analiza dużej liczby klonów gronkowca różniących się stopniem lekooporności wykazała, że wrażliwość na inaktywację foto dynamiczną nie koreluje z tą cechą komórek bakteryjnych. W dyskusji na podstawie danych literaturowych zaproponowano, że odporność na inaktywację fotodynamiczną może wynikać z różnic w budowie ściany komórkowej poszczególnych klonów gronkowca. Jednak sugestii tej nie podparto danymi doświadczalnymi.

W publikacji szóstej pokazano zastosowanie nowego związku fotouczulającego będącego pochodną fuleropirolidyny oraz zaproponowano mechanizm jego działania. Istotną nowością tej publikacji było zastosowanie jako modelu badawczego myszy, których rany na skórze zostały zakażone gronkowcem. Badano w jakim stopniu zastosowanie terapii fotodynamicznej wpłynie na rozwój infekcji. Okazało, się że infekcja przebiegała wolniej w pierwszych dniach stosowania inaktywacji fotodynamicznej. Jednak w późniejszej fazie doświadczenia nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy zwierzętami kontrolnymi a zwierzętami poddanymi terapii fotodynamicznej. W dyskusji zaproponowano nową strategię terapeutyczna polegającą na połączeniu inaktywacji fotodynamicznej z terapią antybiotykową. Jednak tych propozycji nie zweryfikowano doświadczalnie.

W publikacji siódmej skoncentrowano się na roli indukowanych w reakcji fotodynamicznej uszkodzeń materiału genetycznego w mechanizmie śmierci drobnoustrojów. Pokazano, że subletalne dawki inaktywacji fotodynamicznej prowadzą do uszkodzenia materiału genetycznego bakterii. Wyniki te były sprzeczne z wynikami publikacji szóstej ale wyjaśniono, że w przypadku stosowanego tam związku fotouczulającego nie dochodziło do pełnej penetracji fotouczulacza do wnętrza komórki była ograniczona. W publikacji siódmej wykazano, że efekt inaktywacji fotodynamicznej ulega zwiększeniu gdy zostanie uszkodzony system naprawy DNA na przykład poprzez ograniczoną ekspresje białka *recA*. Ponownie zaproponowano terapię opartą o tą obserwację, ale propozycji tej nie zweryfikowano doświadczalnie.

Mocne strony osiągnięcia naukowego: Opublikowanie wyników prowadzonych badań w siedmiu publikacjach o zasięgu międzynarodowym w specjalistycznych czasopismach tematycznie związanych z zakresem prac badawczych prowadzonych przez habilitanta. Istotny wkład habilitanta w powstanie każdej z ocenianych publikacji. Był zarówno autorem korespondującym, jak też autorem o największym wkładzie procentowym w każdą z tych publikacji oraz kierownikiem projektu badawczego, który finansował prowadzone badania. Na uwagę zasługuje również spójność tematyczna prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe

Słabe strony osiągnięcia naukowego: Omawiane prace prezentują wyniki badań uzyskanych za pomocą dość ograniczonego warsztatu badawczego. We wszystkich publikacjach wnioskowanie opiera się na pomiarach przeżywalności drobnoustrojów podanych inaktywacji fotodynamicznej przeprowadzonych w ściśle kontrolowanych warunkach laboratoryjnych oraz korelowaniu tego wyniku z wybranymi właściwościami genetycznymi, biochemicznymi lub metabolicznymi badanych drobnoustrojów. Brakuje analiz o charakterze doświadczalnym, które mogłaby wskazać jakie mechanizmy molekularne odpowiadają za obserwowane zjawiska. Brakuje również doświadczalnej analizy proponowanych podejść terapeutycznych. Na przykład doświadczeń, które pokazywałyby, że połączenie terapii antybiotykowej z inaktywacją fotodynamiczną może prowadzić do efektywnego gojenia ran skóry u myszy. Brakuje również głębszej analizy genetycznych podstaw odporności na inaktywację fotodynamiczną. Przykładowo doświadczenia typu selekcja klonów opornych na tą terapię mogłyby pomóc w poznaniu tych mechanizmów.

Podsumowanie: Nie mam wątpliwości, że dorobek publikacyjny przedstawiony jako osiągnięcie naukowe spełnia wszystkie wymagania niezbędne do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że habilitant był autorem korespondującym wszystkich ocenianych publikacji oraz, że kierował grantami finansującymi te publikacje.

Ocena pozostałego dorobku naukowego: Na całkowity dorobek publikacyjny dr Grinholca składają się 32 publikacje naukowe w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. 8 przed doktoratem i 24 po doktoracie. Wszystkie dotyczą metod inaktywacji bakterii w tym większość koncentruje się na zastosowaniu metody fotodynamicznej. W większości tych prac dr Grinholc zajmuje wiodącą pozycję pośród współautorów.

Mocne strony dorobku publikacyjnego: Niewątpliwie całkowita liczba opublikowanych prac jest imponująca. Ponad to prace te są dobrze cytowane. Całkowita liczba cytowań to 279 zaś indeks Hirscha tych prac ma wartość 10. Tak obfity dorobek publikacyjny świadczy o wielkiej pracowitości habilitanta oraz jego ogromnym entuzjazmie względem tematyki badań. Cały dorobek publikacyjny habilitanta ma wyraźny aspekt aplikacyjny. W centrum zainteresowania dr Grinholca jest opracowanie skutecznych metod zwalczania mikroorganizmów zwłaszcza tych, które odporne są na tradycyjne terapie antybiotykowe. Należy również pochwalić dobór modelu badawczego gdyż gronkowce są jednym z głównych przyczyn zakażeń szpitalnych. Opracowanie metod zwalczania tych zakażeń to szczytny cel, któremu warto poświęcić karierę naukową. Dobrze, że badania te prowadzone są z tak dużą determinacją.

Słabe strony dorobku publikacyjnego: Przede wszystkim brak publikacji w czasopismach głównego nurtu trafiających do szerokiego kręgu badaczy takich jak na przykład Molecular Microbiology, Journal of Bacteriology, Journal of the Biological Chemistry czy Nucleic Acid Research. Czasopisma te publikują prace z zakresu mikrobiologii, które mieszczą się w zakresie zainteresowań badawczych habilitanta. Wymagałoby to jednak poszerzenia strategii badawczej poprzez zastosowanie podejścia doświadczalnego, które weryfikowałoby stawiane w pracach hipotezy. Z drugiej strony można sobie wyobrazić, że głównym celem dr Grinholca nie jest badanie molekularnego podłoża zjawiska inaktywacji fotodynamicznej a raczej poszukiwanie jej praktycznych zastosowań. W tym przypadku spodziewałbym się publikacji w prestiżowych czasopismach klinicznych i biotechnologicznych. To jednak wymagałoby weryfikacji proponowanych przez habilitanta strategii terapeutycznych poprzez zastosowanie odpowiednio dobranych modeli doświadczalnych. Dobrym przykładem było zastosowanie modelu mysiego do analizy wpływu terapii fotodynamicznej na przebieg zakażonej gronkowcem. Jednak moim zdaniem modelu tego nie wykorzystano w stopniu wystarczającym

do publikacji wyników w prestiżowym czasopiśmie.

Podsumowanie: Dorobek publikacyjny dr Grinholca jest całkowicie wystarczający do uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Zarówno liczba opublikowanych prac jak też liczba cytowań tych publikacji oraz fakt zapraszania habilitanta na międzynarodowe konferencje naukowe świadczy o tym, że mamy doczynienia z dojrzałym badaczem i specjalistą w swojej dziedzinie badań. Nie mam również wątpliwości, że prace opublikowane przez habilitanta istotnie poszerzyły naszą wiedzę na temat możliwości zastosowania terapii fotodynamicznej do zwalczania zakażeń bakteryjnych i drobnoustrojowych.

Ocena dorobku dydaktycznego, współpracy naukowej, odbytych staży i działalności popularyzującej naukę: Od rozpoczęcia pracy na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii UG GUMed dr Mariusz Grinholc dał się poznać jako entuzjastyczny i oddany studentom nauczyciel akademicki. Prowadzone przez niego zajęcia są dobrze oceniane przez studentów. Dr Grinholc z własnej inicjatywy przygotował szereg różnego typu zajęć. Między innymi przygotował zajęcia zarówno teoretyczne jak też praktyczne w zakresie Diagnostyki mikrobiologicznej [15g wykład/45g ćwiczenia]; Diagnostyki mikrobiologicznej w przemyśle spożywczym i rolnym [10g wykład/10g ćwiczenia]; Mikrobiologii sądowej" [15g wykład]. Prowadził wykłady w ramach przedmiotu "Wprowadzenie do Biotechnologii" [4g]. Był opiekunem prac licencjackich i magisterskich. Nadzorował projekty badawcze przygotowywane przez studentów ostatniego roku studiów licencjackich. Przygotował materiały dydaktyczne do zajęć dotyczących Diagnostyki Molekularnej i Diagnostyki Mikrobiologicznej. Opiekował się studentami zagranicznymi w ramach programu Erasmus. Jest promotorem pomocniczym w dwóch otwartych przewodach doktorskich. Dr Grinholc jest również aktywnym popularyzatorem nauki w ramach Bałtyckiego Festiwalu Nauki oraz imprez organizowanych przez MWB takich jak Noc Biologów czy Targi Akademickie.

Dr Mariusz Grinholc współpracuje z wieloma zespołami badawczymi zarówno w Polsce jak też w USA, Kanadzie, Niemczech, Wielkiej Brytanii. Większość tych współprac skutkowała wspólną publikacją. Dr Grinholc odbył 5 krótkich zagranicznych staży naukowych.

Mocne strony ocenianych aktywności: Zarówno aktywność dydaktyczna habilitanta, jego zaangażowanie w tworzenie nowych przedmiotów dla studentów biotechnologii jak również aktywny udział w opiece nad pracami dyplomowymi oraz doktorskimi studentów zasługują na najwyższe uznanie. Świadczą o zaangażowaniu w pracę i o umiejętności aktywnego pozyskiwania młodych współpracowników do prowadzenia badań. Również sieć współpracujących z dr Grinholcem zespołów badawczych zagranicznych i krajowych świadczy o jego efektywności w rozwijaniu własnego programu badawczego. Krótkie staże naukowe niewątpliwie przyczyniły się do rozwoju naukowego habilitanta.

Słabe strony ocenianych aktywności. W zasadzie tylko jedna. Brak stażu podoktorskiego w cenionym ośrodku zagranicznym zajmującym się tematyką badawczą kompatybilną z zainteresowaniami habilitanta. Nie mam wątpliwości, że dr Grinholc ma jasno sprecyzowane zainteresowania naukowe oraz jasno wyznaczone cele badawcze i aplikacyjne. Uważam jednak, że co najmniej roczny staż naukowy pomógłby mu rozwinąć nowe strategie badawcze, które doprowadziłyby do publikowania wyników badań w czasopismach głównego nurtu czytanych przez szeroką społeczność uczonych.

Podsumawanie: Aktywności dr Grinholca związane z dydaktyką, opieką nad studentami i młodymi badaczami, popularyzacją nauki i współpracą z innymi grupami badawczymi oceniam

wysoko. Są one całkowicie zgodne ze standardami przyjętymi dla nauczycieli akademickich ubiegających się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. Wyjątkowa aktywność habilitanta związana z wprowadzaniem nowych zajęć dydaktycznych dla studentów oraz jego aktywny udział w popularyzacji nauki zasługują na szczególne wyróżnienie.

Ocena pozyskiwania środków na badania naukowe: Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że wszystkie prace przedstawione przez dr Grinholca jako osiągnięcie naukowe były finansowane z projektów badawczych, którymi kierował. To pokazuje, że dr Grinholc potrafi pozyskiwać środki na swoje prace badawcze. Ponad to zgodnie z aplikacyjnymi zainteresowaniami habilitanta oraz zgodnie z tematem osiągnięcia naukowego najnowsze badania były finansowane przez NCBiR. Umiejętność pozyskiwania środków na badania jest równie ważna jak umiejętność publikowania wyników badań. Należy podkreślić, że dr Grinholc posiadł obie te umiejętności i jest to kolejny argument na rzecz przyznania mu stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Konkluzja: Po zapoznaniu się z osiągnięciem naukowym, dotychczasowym dorobkiem publikacyjnym oraz osiągnięciami związanymi z dydaktyką, współpracą naukową, działalnością związaną z popularyzacją nauki jak również umiejętnością pozyskiwania środków na własne prace badawcze jestem przekonany, że dr Mariusz Grinholc spełnia wszystkie wymagania niezbędne do uzyskania stopnia naukowego Doktora Habilitowanego.