

**UCHWAŁA ZAWIERAJĄCA OPINIĘ I OCENĘ
DOROBKU NAUKOWEGO, DYDAKTYCZNEGO I ORGANIZACYJNEGO
DR N. MEDYCZNYCH AGNIESZKI PIWKOWSKIEJ,
ADIUNKTA W ZESPOLE KLINICZNO-BADAWCZYM MOLEKULARNEJ I
KOMÓRKOWEJ NEFROLOGII,
INSTYTUTU MEDYCYNY DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ
im. M. MOSSAKOWSKIEGO PAN
W WARSZAWIE**

Ocena dokonana w dniu 13 maja 2015 r przez Komisję Habilitacyjną powołaną przez Centralną Komisję ds. Stopni i Tytułów w dniu 17 listopada 2014 r., w sprawie przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego, wszczętego w dniu 11 lipca 2014 r.

Komisja Habilitacyjna w składzie:

Przewodniczący:	prof. dr hab. Jan Górski
Sekretarz:	prof. dr hab. Andrzej Ziemia
Recenzenci:	prof. dr hab. Aldona Dembińska-Kieć prof. dr hab. Janusz Sadowski prof. dr hab. Andrzej Więcek
Członkowie Komisji:	prof. dr hab. Marek Drożdżik dr hab. Robert Strosznajder

Komisja zapoznała się z materiałami dotyczącymi działalności naukowej, dydaktycznej oraz zawodowej dr n. med. Agnieszki Piwkowskiej oraz opiniami recenzentów:

1. prof. dr hab. Aldony Dembińskiej-Kieć, Kierownika Katedry Biochemii Klinicznej, Collegium Medium, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
2. prof. dr hab. Janusza Sadowskiego z Zakładu Fizjologii Nerek i Płynów Ustrojowych, Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN
3. prof. dr hab. Andrzeja Więcka z Katedry i Kliniki Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Komisja Habilitacyjna po zapoznaniu się z dokumentacją oraz nadesłanymi recenzjami przedstawia opinię dotyczącą osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem rozprawy habilitacyjnej, dorobku naukowego, oraz innych osiągnięć.

INFORMACJE OGÓLNE - PRZEBIEG DZIAŁALNOŚCI ZAWODOWEJ I NAUKOWEJ

Pani dr Agnieszka Piwkowska ukończyła studia na Wydziale Chemii Politechniki Gdańskiej w roku 2000, uzyskując tytuł magistra biotechnologii. W latach 2000 – 2005 odbyła studia doktoranckie w Katedrze Technologii Leków i Biochemii Politechniki Gdańskiej. W tym

czasie uzyskała stypendium L'Oreal oraz Polskiego Komitetu UNESCO - *Kobiety Nauki 2003*. Stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna uzyskała na Wydziale Lekarskim, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego po przedstawieniu rozprawy: „Modulatory białek ABC i antymetabolity w badaniach nad opanowaniem problemu oporności wielolekowej komórek nowotworowych”. Promotorem rozprawy był Pan prof. Edward Borkowski. Od 2006 roku jest zatrudniona w Zespole Kliniczno-Badawczym Molekularnej i Komórkowej Nefrologii, Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, obecnie na stanowisku adiunkta. Oceniając przebieg działalności zawodowej Habilitantki prof. dr hab. Aldona Dembińska-Kieć podkreśla, że stanowi ona *„przykład rozwoju naukowego absolwentów niemedycznych wydziałów (...), których doświadczenia zawodowe (...) owocują w wysoce specjalistycznym, profesjonalnym badaniem podłoża chorób w modelach doświadczalnych”*.

OCENA DOROBKU NAUKOWEGO

Dorobek naukowy Habilitantki w czasie składania przez nią dokumentów niezbędnych do przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego obejmuje współautorstwo 21 publikacji naukowych (wszystkie objęte listą filadelfijską), oraz 6 komunikatów na zjazdach międzynarodowych i 17 na zjazdach krajowych. Jest pierwszym autorem w 10 publikacjach; 16 artykułów zostało opublikowanych po doktoracie. Sumaryczny Impact Factor dorobku habilitantki wynosi 53,840, 464 punkty MNiSW, oraz 55,53 punkty Index Copernicus. Liczba cytowań wg. Web of Science 228, bez autocytowań; 199 a indeks Hirscha wynosi 8. Z dorobku naukowego wyodrębniono 5 prac o łącznym IF = 17.959 (155 punktów MNiSW), stanowiących osiągnięcie naukowe (w myśl art.16 ust.2 Ustawy z 14 marca 2003r., o stopniach naukowych i tytule naukowym, Dz.U. z 2003r., nr 65, poz.595, Dz.U. z 2005 r., nr. 164, poz. 1365, Dz.U. z 2011 r., nr.84, poz. 455).

Pani dr A. Piwkowska uczestniczyła w realizacji 11 projektów badawczych, w tym w grantu promotorskiego. Jak stwierdził prof. dr hab. Janusz Sadowski *„Dr Piwkowska wykazuje niebywałą skuteczność w uzyskiwaniu grantów”*. Była kierownikiem czterech grantów, zaś w sześciu głównym wykonawcą. Do Jej dorobku naukowego należy również zaliczyć współautorstwo jednego zgłoszenia patentowego. Jej praca naukowa była trzykrotnie wyróżniana: Nagrodą Zespołową II Stopnia Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, oraz dwa razy Nagrodą Naukową Dyrektora IMDiK. PAN za publikacje o wysokim współczynniku oddziaływania.

Praca naukowa dr. A. Piwkowskiej przed doktoratem koncentrowała się na oporności wielolekowej nowotworów, a ważnym jej wnioskiem było wykazanie, że związki modyfikujące aktywność białek transportowych dla ksenobiotyków są kompetencyjne do cytostatyków stosowanych w klinice.

Po doktoracie główny nurt badań, w których czynny udział brała Habilitantka, dotyczył molekularnych podstaw zaburzeń funkcji komórek kłębuszka nerkowego w stanach patologicznych i czynników regulujących funkcję kłębuszka nerkowego, a także roli układu purynergicznego w regulacji filtracji kłębuszkowej i mechanizmu insulinooporności podocytów z uwzględnieniem przemian heksozamin, kinazy białkowej aktywowanej przez AMP oraz reaktywnych form tlenu. Wraz z współpracownikami dr. A. Piwkowska wykazała m.in., że metformina w komórkach podocytarnych jest odpowiedzialna za zmniejszenie produkcji reaktywnych form tlenu, **Prof. dr hab. Aldona Dembińska-Kieć** podkreśla, że prace te były publikowane w znaczących czasopismach o zasięgu międzynarodowym i wyróżnia w nich dwa nurty zagadnień: pierwszy - będący kontynuacją poprzednich zainteresowań, dotyczył roli ABC transporterów w onkologicznej oporności wielolekowej oraz eliminacji organicznych anionów i leków przez podocyty. Druga grupa badań wiąże się głównie z tematem rozprawy habilitacyjnej i dotyczy funkcji podocytów, w modelu doświadczalnym stresu oksydacyjnego (rola NAD(P)H oksydazy receptorów purynergicznych, ATP, AMPK-PTEN, exo-fosfodiesterazy, w insulinooporności i funkcji transportowej glukozy podocytów. Jak zauważył prof. dr hab. Andrzej Więcek - niewiele ośrodków na świecie zajmuje się tymi zagadnieniami.

OCENA CYKLU PUBLIKACJI ZŁOŻONYCH JAKO OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE

Przedstawione przez Habilitantkę osiągnięcie naukowe obejmuje pięć jednorodnych prac opublikowanych w latach 2011 – 2014, o sumarycznym współczynniku oddziaływania $IF = 17,959$ (KBN/MNiSW = 155). W pracach tych kandydatka jest pierwszym autorem. Całość ujęta została w formie opracowania zatytułowanego **„Rola kinazy białkowej G i reaktywnych form tlenu w regulacji funkcji podocytów w warunkach fizjologicznych i wybranych stanach patofizjologicznych”**. Prof. dr hab. Janusz Sadowski zauważa, że prace zostały opublikowane w czasopismach o wysokim IF, co oznacza, że *„zostały rygorystycznie recenzowane przez specjalistów z właściwej dziedziny”*. Z kolei prof. dr hab. Aldona Dembińska-Kieć podkreśla, że podjęty przez Habilitantkę temat dotyczy jednego z mechanizmów zaburzenia bariery filtracyjnej kłębuszków i może przyczynić się do lepszego zrozumienia zjawisk związanych z glomerulopatią cukrzycową.

W przedstawionych pracach będących przedmiotem przewodu habilitacyjnego wymienić należy następujące ważne osiągnięcia:

1. Po raz pierwszy w piśmiennictwie światowym stwierdzono obecność w podocytach kinazy białkowej G typu I alfa. Wykazano, że jej aktywność w podocytach jest zależna od glikemii i aktywności oksydazy NAD(P)H. W czasie inkubacji podocytów w wysokich stężeniach glukozy wzrastała aktywność tego enzymu, przy czym była ona znacznie wyższa w homogenatach otrzymanych z podocytów, niż w całych kłębuszkach nerkowych. Sugeruje to, że podocyty mogą być komórkami zdolnymi do wytwarzania reaktywnych form tlenu, z drugiej zaś strony mogą być bardzo wrażliwe na zmiany jego stężenia. Konsekwencją aktywacji kinazy białkowej G była zwiększona przepuszczalność błony filtracyjnej dla albuminy w obecności insuliny.

2. Wykazano znaczenie reaktywnych form tlenu w regulacji aktywności kinazy białkowej G typu I alfa i opisano jej wewnątrzkomórkowy szlak przekazywania sygnału.

Zastosowanie różnych inhibitorów enzymów produkujących ROS wykazało, że oksydaza NAD(P)H jest ważnym źródłem reaktywnych form tlenu w komórkach podocytarnych. W badaniach wykazano ponadto zależność wytwarzania ROS od stężenia i czasu inkubacji podocytów z glukozą. Stwierdzono obecność czterech jednostek błonowych NOX1, NOX2, NOX4, p22phox oraz jednostek cytoplazmatycznych p47phox i p67phox oksydazy NAD(P)H, przy czym podczas długotrwałej inkubacji podocytów w wysokim stężeniu glukozy nastąpił istotny wzrost aktywności jedynie podjednostki NOX4 oksydazy NAD(P)H. Tym samym wzrost wytwarzania ROS przy wysokim stężeniu glukozy jest związany z nadekspresją tej podjednostki. Wykazano także, że podjednostka NOX4 oksydazy NAD(P)H odgrywa kluczową rolę w regulacji aktywności dysmutazy nadtlenowej (SOD), peroksydazy glutationowej (GPx) i katalazy (CAT) w podocytach ekspozycjach na wysokie stężenia glukozy. Sugeruje to, że zwiększona ilość białka NOX4 i związana z tym zwiększona aktywność tego enzymu może powodować zaburzenie równowagi antyoksydacyjnej, a w konsekwencji wzrost ilości reaktywnych form tlenu w komórkach podocytarnych.

3. W kolejnych badaniach wykazano, że podjednostka NOX4 jest odpowiedzialna za stymulujące działanie insuliny na NADPH-zależną generację O_2^- - ten oryginalny wynik otrzymany przez Habilitantkę wskazuje na nowy, nieznany dotąd mechanizm regulatorowy działania insuliny.

4. Oryginalnym odkryciem Habilitantki jest opisanie dimeryzacji PKGIalfa pod wpływem nadtlenu wodoru, oraz przy inkubacji w wysokim stężeniu glukozy lub w obecności

insuliny. Wskazuje to na to, że w podocytach zarówno insulina jak i glukoza są związane z oksydacyjną aktywacją PKG1alfa za pośrednictwem podjednostki NOX4 oksydazy NAD(P)H.

5. Badania Habilitantki potwierdziły rolę insuliny w zwiększeniu transportu glukozy do komórki poprzez aktywację izoformy PKG1alfa w komórkach podocytarnych.

6. W badaniach Habilitantka opisała nowy mechanizm działania PKG1alfa w regulacji czynności aparatu kurczliwego komórek podocytarnych. Otrzymane wyniki sugerują, że wysokie stężenia glukozy mogą wpływać na rozkurcz tego aparatu. Wykazano, że insulina poprzez wzrost produkcji reaktywnych form tlenu bierze również udział, poprzez aktywację PKG1a, w regulacji czynności aparatu kurczliwego komórek podocytarnych. Mechanizm tego zjawiska polega na obniżeniu fosforylacji lekkich łańcuchów miozyny. Prowadzi to do rozkurczu aparatu kurczliwego i powiększenia szczelin filtracyjnych, a w konsekwencji utraty prawidłowej funkcji podocytów, skutkującej zwiększeniem przepuszczalności bariery filtracyjnej.

Opisane mechanizmy mogą mieć kluczowe znaczenie w zwiększonej przepuszczalności filtru kłębuszkowego w stanach patologicznych przebiegających ze zwiększoną akumulacją wolnych rodników.

Wszyscy recenzenci wysoko ocenili przedstawione do recenzji osiągnięcie naukowe dr. A. Piwkowskiej.

Prof. dr hab. Aldona Dembińska-Kieć pisze, że badania Habilitantki: *„...wprawdzie wykonane na modelu zwierzęcym stanowią oryginalny, spójny i bardzo istotny wkład w zrozumienie metabolizmu upośledzenia funkcji nefronu, a zwłaszcza uszkodzenia w przebiegu nefropatii cukrzycowej”*, oraz, że *„dają istotną podstawę do drogi poszukiwania nowych terapii, które mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu powikłań cukrzycy”*.

Prof. dr hab. Andrzej Więcek podkreśla, że *„uzyskane przez Habilitantkę wyniki mają kluczowe znaczenie w rozumieniu patogenezy uszkodzenia błony filtracyjnej i rozwoju cukrzycowej choroby nerek u chorych z wieloletnią cukrzycą. Tak wnikliwie poznane mechanizmy patogenetyczne dają nadzieję, że poznane zaburzenia szlaków metabolicznych mogą być w przyszłości docelowym obiektem terapii, która przyczyni się do zmniejszenia rozwoju przewlekłej cukrzycowej choroby nerek”*

Prof. dr hab. Janusz Sadowski oceniając przedstawione opracowanie stwierdza, że: *„Umiejętność stworzenia omówionego wyżej przeglądu stanowi potwierdzenie umiejętności badaczki w zakresie dokonywania integracji wniosków z wielu badań, co jest jeszcze jednym*

dowodem na to, że osiągnęła szczybel rozwoju zawodowego wymagany od samodzielnego pracownika nauki”.

DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA I ORGANIZACYJNA

Działalność dydaktyczna Habilitantki związana jest z nauczaniem złożonej metodyki badań prowadzonych w macierzystym zakładzie w formie seminariów dla młodszej kadry rodzimego zespołu badawczego. Ponadto Habilitantka była opiekunem pracy magisterskiej pani Ireny Audzeyenki pt: Rola kinazy białkowej G w regulacji aparatu kurczliwego podocytów w warunkach normo i hiperglikemii”

WNIOSEK KOŃCOWY

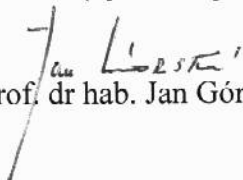
We wnioskach końcowych wszyscy Recenzenci są zgodni co do wysokiej wartości dotychczasowych osiągnięć Habilitantki i z pełnym przekonaniem wnioskuje o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. Janusz Sadowski określa przedstawione przez Habilitantkę „osiągnięcie naukowe” jako „chwalebny przykład serii badań, które wcale nie zostały zaplanowane w celu uzyskania tytułu doktora habilitowanego, ale są tematycznie wyodrębnionym koherentnym fragmentem bardzo istotnego i stale powiększającego się dorobku badawczego. Zarówno „cykl habilitacyjny” jak i dorobek badawczy jako całość charakteryzują się nowoczesnością i perfekcyjnością wykonania. Nie ma wątpliwości, że w sposób istotny wzbogacają współczesną wiedzę (...) Osiągnięcia te wskazują, autorka ich w pełni spełnia wymagania stawiane samodzielnym pracownikom naukowym”.

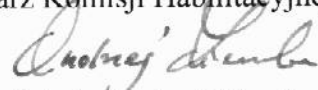
Prof. dr hab. Aldona Dembińska-Kieć pisze: „Całokształt dorobku naukowego, rozprawę habilitacyjną jak i przebieg pracy Habilitantki oceniam bardzo wysoko. Przedstawiony dorobek naukowy wzbogaca wiedzę o mechanizmach działania nie do końca przebadanego mechanizmu angiopatii cukrzycowej. Praca oparta jest o rzetelnie wykonaną od strony podstawowych badań biochemicznych pracę biologa molekularnego, potrafiącego wykorzystać zdobytą wiedzę i doświadczenie Zespołu Badawczego do nowatorskiego kontynuowania tematu badawczego dzięki zdobytym projektom i darze współpracy w zespole”. **Prof. dr hab. Andrzej Więcek** uwzględniając stwierdzenia swojej opinii stwierdza: „bardzo wysoko oceniam dorobek habilitantki i Jej umiejętności badawcze”

Komisja Habilitacyjna przedstawia podjętą w dniu 13 maja 2015 r. w głosowaniu jawnym uchwałę o skierowaniu do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie wniosku o nadanie dr n. med. Agnieszce Piwkowskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna.

Przewodniczący Komisji Habilitacyjnej:

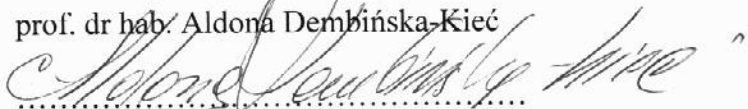

Prof. dr hab. Jan Górski

Sekretarz Komisji Habilitacyjnej:


Prof. dr hab. Andrzej Ziemia

Recenzenci:

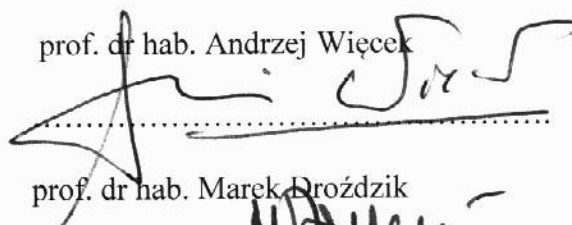
prof. dr hab. Aldona Dembińska-Kieć



prof. dr hab. Janusz Sadowski

.....

prof. dr hab. Andrzej Więcek



Członkowie Komisji:

prof. dr hab. Marek Drożdżik



dr hab. Robert Strosznajder

