

Warszawa, 24 listopada 2016

Dr hab. Paweł Pomorski profesor nadzwyczajny  
Pracownia Molekularnych Podstaw Ruchów Komórkowych  
Zakład Biochemii, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN  
ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

## Ocena osiągnięcia naukowego i dorobku naukowego oraz działalności organizacyjnej i dydaktycznej dr Elżbiety Ziemińskiej w związku z ubieganiem się o stopień doktora habilitowanego

### Sylwetka Kandydatki

Dr. Elżbieta Ziemińska w roku 1993 ukończyła studia magisterskie na wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, specjalizując się w Biologii Środowiskowej, wykonując pracę magisterską pt. „Skażenie kadmem i cynkiem myszy leśnej i nornicy rudej w strefie oddziaływań emisji huty cynku Miasteczko Śląskie” w Zakładzie Ekologii Instytutu Zoologii pod kierunkiem prof. dr hab. Kazimierza Dobrowolskiego. Rozprawę doktorską dr Ziemińska wykonała w Zakładzie Neurochemii, Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN pod kierunkiem prof. dr hab. med. Jerzego Łazarewicza. Rozprawa była zatytułowana: „Mechanizmy ekscytotoksyczności w neurotoksycznym działaniu homocysteiny” i została obroniona w roku 2006, przynosząc dr Ziemińskiej stopień doktora nauk medycznych.

### Ocena osiągnięcia naukowego

Oceniane osiągnięcie naukowe zatytułowano „Wpływ wybranych substancji chemicznych na zaburzenia homeostazy wapnia i cynku w hodowli pierwotnej neuronów ziarnistych mózdzku szczura”. Składa się nań sześć oryginalnych prac doświadczalnych opublikowanych w latach 2005 - 2015, w czasopismach o łącznym IF 20,706 (według autorki, według moich obliczeń 20,062, co zapewne zależy od wyboru roku) i przynoszących 177 punktów według statystyki MNiSW. Wszystkie prace składające się na osiągnięcie naukowe dr Elżbiety Ziemińskiej zostały opublikowane w czasopismach notowanych w Journal Citation reports i tak: 1. Biomedical Optics Express: IF 3,344, aktualnie drugi kwartył dziedziny, 2 i 5. Toxicology IF 3,817, pierwszy kwartył, 3. Journal of Physiology and Pharmacology, IF 2,804, drugi kwartył, 4 i 6. Neurotoxicity Research, IF 3,140, drugi kwartył. Wszystkie zatem prace ukazały się w przyzwoitych, wręcz renomowanych czasopismach. Jako, że jednak oceniamy nie czasopisma a ukazujące się w nich prace, należy spojrzeć jak powyższe doniesienia cytują się na tle czasopism, w których się ukazały. Prace mają w

sumie 32 cytacje, duży oddźwięk wzbudziła zwłaszcza praca numer 2, "The role of the glutamatergic NMDA receptor in nanosilver-evoked neurotoxicity in primary cultures of cerebellar granule cells" uzyskując w ciągu dwóch lat 11 cytacji, trzy razy więcej niż należałoby się spodziewać po IF czasopisma.

Autorka osiągnięcia jest pierwszym autorem pięciu z sześciu prac, wchodzących w skład zgłoszonego osiągnięcia naukowego. Za wyjątkiem pierwszej z tych prac, w której autorka nie jest pierwszym autorem, procentowy udział wysiłków autorki została oszacowany przez nią na 60-75% a załączone oświadczenia współautorów nie zadają kłamu temu twierdzeniu.

Osiągnięcie naukowe autorki koncentruje się na wykazaniu wspólnego mechanizmu działania szerokiego spektrum związków neurotoksycznych, wpływających w znaczący sposób na homeostazę wapniową neuronów i związane z nią mechanizmy patofizjologiczne. Autorka wykazała również, że niektóre z tych substancji mogą poważnie zaburzać homeostazę cynku. Badania zostały przeprowadzone *in vitro*, autorka posłużyła się w nich hodowlami neuronów ziarnistych mózdzku szczura. Zastosowanie hodowli komórkowych co najmniej uprościło zastosowanie wielu stosowanych przez autorkę metod badawczych, zwłaszcza metod mikroskopii konfokalnej, użytej do ilościowego obrazowania takich zjawisk jak zmiany stężenia jonów wapnia i magnezu w cytoplazmie czy też potencjału błon mitochondrialnych i produkcji wolnych rodników. W odróżnieniu od doświadczeń tego typu, wykonywanych na hodowlach skrawków mózgu czy też *in vivo*, autorka nie miała wątpliwości, czy obserwowany sygnał pochodzi z neuronów, czy też innych komórek Ośrodkowego Układu Nerwowego (np. komórek gleju). Nasuwa się jednak pytanie, czy weryfikacja wyników wyżej wymienionymi metodami *in vivo* nie byłaby sensowną kontynuacją podjętych prac. Trochę brakuje w załączony materiale odniesienia do rzeczywistych stężeń badanych substancji w płynie mózgowo-rdzeniowym osób eksponowanych na badane substancje. Tak na przykład w przypadku thiomersalu, autorka zaznacza, że używane w doświadczeniach stężenia są znacznie wyższe od napotykanym w praktyce klinicznej ale nie precyzuje o ile i jak substancja przenika przez barierę krew-mózg. Niemniej jednak, model badawczy został wybrany optymalnie, zarówno z punktu widzenia jakości uzyskiwanych wyników, kosztów doświadczeń jak i z punktu widzenia etycznego, ograniczając liczbę zwierząt zabijanych w trakcie badań (tu warto zwrócić autorce uwagę, że szczury są policzalne i nie można mówić o „ilości zwierząt” str. 4 autoreferatu). Czepiając się nielicznych niezręczności językowych, wskazujących na pewien pośpiech podczas pisania autoreferatu, wspomnę, że pisząc „szereg prac przeglądowych” warto by wymienić więcej niż jedną (str.3).

Przechodząc do szczegółów, to pracę stanowią blok wyjątkowo spójny, mimo rozmaitych badanych czynników neurotoksycznych zarówno metodyka jak i podejście do uzyskiwanych wyników są wyjątkowo konsekwentne.

Przechodząc do uwag szczegółowych, w pozycji 1, „Neurotoxic effects of indocyanine green - cerebellar granule cell culture viability study”, autorka trochę zaniedbała drugą badaną substancję: Gadovist. Jony gadolinu są bowiem skutecznymi inhibitorami niektórych kanałów wapniowych, zwłaszcza kanałów zależnych od naprężeń mechanicznych. Obecność jonów gadolinu w pożywce może mieć zatem hamujący wpływ na sygnalizację wapniową w badanych komórkach.

W pozycji 2, „The role of the glutamatergic NMDA receptor in nanosilver-evoked neurotoxicity in primary cultures of cerebellar granule cells”, autorka dyskutuje możliwy wpływ ekscytotoksyczności i produkcji wolnych rodników tlenowych w efekcie neurotoksycznym. Stwierdzenie o dwóch niezależnych mechanizmach nie jest tu uzasadnione. Musimy pamiętać, że transport jonów wapnia do mitochondriów następuje kosztem potencjału błonowego, niejako konkurując tu z produkcją ATP. Jednocześnie wapń pobudza łańcuch oddechowy, powodując wzrost produkcji wolnych rodników.

Warto też pamiętać, że podanie inhibitorów pomp SERCA powodują wystąpienie nie tylko zależnego od receptorów rianodynowych mechanizmu calcium-induced-calcium-release ale prowadzi do odróżnienia siateczki wewnątrzplazmatycznej ze zmagazynowanego w niej wapnia i co dalej idzie, napływu wapnia ze środowiska w zjawisku zwanym pojemnościowym napływem wapnia. Te bardzo ważny fizjologicznie mechanizm jest zdecydowanie zaniedbywany przez autorkę, co jest dość typowe dla badaczy pracujących na komórkach pobudliwych.

Bardzo ciekawe dane dotyczą roli cynku jako liganda sond wapniowych (w tym przypadku sondy fluorescencyjnej Fluo 3). Zdając sobie sprawę ze zdolności związków chelatujących wapń do wiązania innych jonów metali (zwłaszcza magnezu) z ciekawością przeczytałem fragment opisujący pojawienie się sygnału fluorescencyjnego pochodzącego od cynku a nie wapnia. Niedosyt pozostawia niestety całkowite pominięcie zagadnienia pochodzenia tego sygnału. Pamiętać bowiem trzeba, że różnica stężenia wapnia między środowiskiem a cytoplazmą to ponad 10 tysięcy razy i to ten gradient pozwala na napływ wapnia i powstawanie sygnału. Dla innych jonów dwuwartościowych nie zaobserwowano takiego zjawiska. Stąd zakłada się, że stężenie jonów magnezu (a także cynku) wpływa na kalibrację pomiarów ale nie sam ich przebieg. Wszystkie te wątpliwości nie umniejszają jednak znaczenia osiągniętych wyników i dotyczą raczej wątków pobocznych, pojawiających się w pracach dr Ziemińskiej niż głównych zagadnień ocenianego Osiągnięcia.

## Pozostała działalność naukowa i organizacyjna

Prócz prac opisujących osiągnięcie naukowe dr Elżbiety Ziemińskiej, autorka opublikowała 22 prace oryginalne (w tym aż 11 przed uzyskaniem stopnia doktora) oraz 2 monografie. W dziewięciu przypadkach jest pierwszym autorem publikacji a w dwóch ostatnim. Nieco zaskakujący jest fakt, że oba ostatnie autorstwa pochodzą z prac opublikowanych przed doktoratem. Sumarycznie jej prace cytowane są około 400 razy a jej Index Hirsha wyniósł 13 (bardzo dużo jak na taką liczbę cytacji, co świadczy o fakcie, że mamy do czynienia z wieloma solidnymi pracami a nie jednym hitem).

Dr Elżbieta Ziemińska była uczestnikiem prac nad dziesięcioma grantami KBN, MNiSW oraz NCN. W dwóch przypadkach była kierownikiem grantów: „Rola wewnątrzkomórkowych zasobów wapnia wrażliwych na rianodynę w uprzepuszczalności mitochondriów komórek ziarnistych mózdzku szczura” 1999- 2001 realizowanego w latach oraz „Oddziaływanie syntetycznych bastadyn na funkcjonowanie kompleksu receptora rianodynowego w mikrosomach neuronów mózgu” realizowanego w latach 2002 – 2004.

Prace przeglądowe opublikowane przez dr Ziemińską (zwłaszcza praca „Role of Ca<sup>2+</sup> release from ryanodine stores in generation of NMDA-induced Ca<sup>2+</sup> signal in rabbit hippocampus”) wiążą się z tematyką osiągnięcia, choć zostały opublikowane jeszcze przed uzyskaniem przez autorkę doktoratu.

Dr Elżbieta Ziemińska prezentowała swoje wyniki na licznych konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Jedynym słabym punktem dorobku Dr Elżbiety Ziemińskiej jest jej długotrwały, zagraniczny staż naukowy. Recenzent ma wątpliwości, czy trzy miesiące to „długotrwały” ale przy odrobinie dobrej woli można tak stwierdzić.

## Podsumowanie

Reasumując, chciałbym stwierdzić, że zarówno samo osiągnięcie, jak i całkowity dorobek naukowo-badawczy i dydaktyczny dr Elżbiety Ziemińskiej spełniają wszystkie formalne wymogi Ustawy o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki (14 marca 2003 roku, ze zmianami z dnia 18 marca 2011 roku).

