

Ocena osiągnięcia będącego podstawą dla postępowania habilitacyjnego
pt.: „Wpływ wybranych substancji chemicznych na zaburzenia homeostazy wapnia i
cyнку w hodowli pierwotnej neuronów ziarnistych mózdzku szczura”
oraz dorobku naukowego dr n. med. Elżbiety Ziemińskiej

Dr n. med. Elżbieta Ziemińska ukończyła studia w 1993 r. na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego uzyskując dyplom z zakresu biologii środowiskowej pod opieką prof. dr hab. Kazimierza Dobrowolskiego. Wkrótce po dyplomie podjęła pracę w Pracowni Immunologii Leukocytów i Płytek Krwi Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie gdzie pracowała do 1995 roku. Następnie podjęła pracę w Pracowni Farmakoneurochemii Zakładu Neurochemii Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN Warszawie. Stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej nadała jej Rada Naukowa IMDiK PAN w 2006 r. na podstawie rozprawy „Mechanizmy ekscytotoksyczności w neurochemicznym działaniu homocysteiny”.

Po uzyskaniu tytułu doktora nauk przyrodniczych Habilitantka kontynuowała pracę w Pracowni Farmakoneurochemii Zakładu Neurochemii IMDiK PAN gdzie pracuje do dziś.

1. Ocena osiągnięć naukowo-badawczych Habilitantki

Dorobek naukowy Habilitantki obejmuje 29 artykułów opublikowanych w anglojęzycznych czasopismach indeksowanych w bazie ISI Web of Science. W 9 z prac dr Ziemińska jest 1 autorem, natomiast w 4 drugim współautorem. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (wg ISI Web of Science, zgodnie z rokiem opublikowania) publikacji Habilitantki wynosi 72,407 (punktacja KBN/MNiSW=385). Liczba cytowań (wg bazy ISI Web of Science) wynosi 394 (bez autocytowań), zaś indeks Hirscha = 13. Przed rokiem obrony doktoratu Habilitantka opublikowała 11 prac, wszystkie opublikowano w czasopismach posiadających współczynnik oddziaływania IF – sumaryczny współczynnik oddziaływania publikacji dr Sypeckiej przez doktoratem wynosi 25,051. Habilitantka brała również czynny udział w konferencjach krajowych i zagranicznych, jest współautorem 62 doniesień zjazdowych, z których 48 przedstawiono na konferencjach międzynarodowych przy czym pierwszym autorem była w 43 z nich. Ponad to dr Ziemińska jest autorem 2 monografii w czasopismach innych niż znajdujące się w bazie Journal of Citation Reports.

Podsumowana powyżej aktywność naukowa Habilitantki znalazła odzwierciedlenie w ocenach paneli recenzentkich przyznających środki na badania naukowe – dr Ziemińska była kierownikiem 2 krajowych projektów badawczych w latach 1999-2001 i 2002-2004, oraz była lub aktualnie jest wykonawcą lub głównym wykonawcą 8 innych projektów badawczych.

Po podjęciu pracy w Zakładzie Neurochemii IMDiK do 2006 roku dr Elżbieta Ziemińska początkowo zajmowała się badaniami nad mechanizmami sprzężonego z aktywacją receptorów NMDA uwalniania wapnia z magazynów wapniowych indukowanego przez wapń z zastosowaniem modelu mikrodializy hipokampa królika. Wyniki jej badań stały się podstawą dla 2 publikacji. Następnie we współpracy z Zakładem Neurotoksykologii IMDiK podjęła badania nad mechanizmami pęcznienia i uprzeczszczalnienia mitochondriów związanych z neurotoksycznością glutaminy i wpływu cyklosporyny A na ten proces (1 publikacja) ora nad rolą glutaminy w dysfunkcji mitochondriów mózgu w encefalopatii wątrobowej i hiperamonemii (3 publikacje we współpracy z Zakładem Farmakologii i Farmakoterapii Uniwersytetu Kopenhaskiego).

W 1998 dr Ziemińska odbyła stypendium szkoleniowe w Zakładzie Toksykologii Karolinska Institute w Sztokholmie z zakresu zakładania i prowadzenia pierwotnych hodowli komórek ziarnistych mózdzku szczura, które stało się inspiracją dla wprowadzenia tej metodyki w Zakładzie Neurochemii IMDiK PAN i zaowocowało całym cyklem (22) publikacji oraz 3 rozprawami doktorskimi w tym własną Habilitantki. W swoich badaniach postanowiła ona skupić się na mechanizmach ekscytotoksyczności w neurotoksycznym działaniu homocysteiny i po raz pierwszy wykazała, że poza wcześniej znanym powinowactwem do receptorów NMDA homocysteina ma też powinowadztwo dla receptorów metabotropowych dla glutaminianu I. Wyniki badań zawarte w pracy doktorskiej dr Ziemińskiej zostały następnie opublikowane w 3 artykułach w czasopismach o wysokim współczynniku wpływu.

Sumarycznie, całość dorobku naukowego Habilitantki przed doktoratem obejmuje 11 publikacji (sumaryczny współczynnik wpływu 25.051) i 34 aktywne doniesienia zjazdowe. Z powyższych danych wynika więc, że Habilitantka znacząco rozwinęła się naukowo w okresie po doktoracie, dzięki czemu między innymi powstał cykl 6 prac o łącznym współczynniku oddziaływania $IF = 20,706$ składających się na osiągnięcie będące podstawą wniosku o nadanie tytułu doktora habilitowanego.

W mojej ocenie szczególnie istotnym wydaje się fakt, że dorobek Habilitantki ma w znacznym stopniu tę samą ideę przewodnią a prowadzone przez dr Ziemińską w ramach doktoratu badania mechanizmu neurotoksyczności w modelu pierwotnej hodowli neuronów ziarnistych mózdzku stały się inspiracją dla kolejnego cyklu badań poświęconego wpływowi różnych substancji na homeostazę wapniową i cynkową w komórkach neuronalnych. Nie jest to uwaga krytyczna, wręcz przeciwnie uważam, że znaczna spójność tematyczna dorobku naukowego Habilitantki stanowi jego zaletę.

Kluczową dla całego cyklu badań jest praca *Neurotoxic effects of indocyanine green – cerebellar granule cell culture study* opublikowana w 2014 roku (Biomed Opt Express, 5, 800-816). Bazując na danych literaturowych, z których wynika, że środki kontrastowe stosowane w badaniach obrazujących zarówno zmiany morfologiczne w OUN (gadolina) jak i zaburzenia

perfuzji mózgu z towarzyszącym uszkodzeniem bariery krew-mózg (indocyjanina - ICG) nie zostały dotychczas przebadane pod kątem toksycznego wpływu na neurony, Habilitantka wykazała, że ICG w wysokich stężeniach działa szkodliwie na komórki ziarniste mózdzku a proces ten jest związany z tworzeniem oligomerów ICG w roztworach wodnych. Przeprowadzone jednocześnie badania *ex vivo* nad procesem oligomeryzacji ICG wykazały że obecność jonów wapnia jest kluczowa dla zmian właściwości fizykochemicznych ICG a mechanizmem pierwotnym odpowiedzialnym za neurotoksyczność ICG są zaburzenia homeostazy wapniowej.

Ta przesłanka zainspirowała badania nad potencjalnym toksycznym wpływem nanocząstek srebra (NAg), substancji często wykorzystywanej w produkcji implantów ze względu na jej silne właściwości przeciwbakteryjne, których wyniki zostały opublikowane w drugiej z cyklu prac. Ponownie stosując zaawansowane techniki *in vitro* dr Ziemińska wykazała, że neurotoksyczność NAg związana jest z aktywacją receptorów NMDA i następczym napływem jonów wapnia do komórek oraz mobilizacją wapnia wewnątrzkomórkowego jak również z dysfunkcją mitochondriów i wzrostem ilości generowanych wolnych rodników tlenowych. W 2 kolejnych z cyklu prac wyjaśniających mechanizm neurotoksyczności tetrabromobisfenolu A (TBBPA) – kolejnej z substancji szeroko rozpowszechnionych w przemyśle i budownictwie ze względu na istotne obniżanie palności Habilitantka po raz kolejny wykazała udział receptorów NMDA w zaburzeniach homeostazy wapniowej w komórkach neuronalnych. Ponad to, dzięki optymalnemu połączeniu inhibitorów kanałów rianodynowych udało jej się stworzyć system *in vitro* umożliwiający różnicowanie pomiędzy wzrostem ilości wapnia spowodowanym przez uwolnienie go z magazynów wewnątrzkomórkowych i jego napływem przez błonę cytoplazmatyczną. Szczególnie interesującym aspektem tego ostatniego eksperymentu jest wykorzystanie stworzonego systemu celem zróżnicowania mechanizmów neurotoksyczności TBBPA w zależności od stężenia podawanej substancji związanych początkowo głównie ze stresem ER i uwolnieniem wapnia z magazynów wewnątrzkomórkowych a dopiero w przypadku wyższych stężeń badanej substancji z niekontrolowaną aktywacją receptorów NMDA i indukcją klasycznego mechanizmu ekscytotoksyczności. Co więcej jego zastosowanie pozwoliło także na ustalenie, że destabilizacja homeostazy wapniowej przy wysokich stężeniach podanej substancji nie jest jedynym mechanizmem odpowiedzialnym za neurotoksyczność. Habilitantka w swoich badaniach wykazała również, że działają tutaj również inne, niezależne bezpośrednio od wapnia mechanizmy indukowane przez TBBPA prowadzące do śmierci komórki związane ze wzrostem produkcji wolnych rodników tlenowych i stesem oksydacyjnym.

Równoległym wątkiem w dorobku Habilitantki są badania poświęcone wpływowi niektórych z wymienionych powyżej substancji na homeostazę cynkową w hodowli komórek ziarnistych mózdzku. Bodźcem dla tych badań były badania nad toksycznością timerosalu,

szeroko stosowanej substancji antyseptycznej i grzybobójczej, która zawiera w swoim składzie rtęć, podobnie jak srebro wchodzącą w interakcje ze znacznikami fluorescencyjnymi wykorzystywanymi w badaniach zmian wewnątrzkomórkowych stężeń wapnia. Habilitantka, stosując selektywny chelator cynku wykazała, że istotna część (ok. 30%) sygnału w przypadku Fluo-3 przypisywanego sygnałowi wapniowemu jest w rzeczywistości związana z cynkiem. Bazując na tych informacjach oraz danych z literatury o istotnym znaczeniu cynku dla homeostazy OUN dr Ziemińska podjęła badania nad wpływem zmian poziomu cynku na przeżywalność neuronów w przypadku ekspozycji na nanocząstki srebra. W swoich eksperymentach wykazała po raz pierwszy, że po inkubacji komórek z nanocząstkami srebra w stężeniach toksycznych dochodzi do bardzo istotnego wzrostu poziomów cynku w cytozolu, z jednoczesnym istotnym spadkiem całkowitej zawartości cynku w lizatach komórkowych. W kolejnym etapie badań Habilitantka wykazała neuroprotektoryjne działanie jonów cynku w stosunku do komórek ziarnistych mózdzku, związany z hamowaniem aktywacji receptorów NMDA. Jednocześnie wyniki jej badań wskazują na neurotoksyczne efekty niedoboru cynku związane ze spadkiem potencjału błonowego mitochondriów i istotnym wzrostem ilości generowanych wolnych rodników tlenowych.

Podsumowując, stwierdzam, że scharakteryzowany powyżej, jednotematyczny cykl publikacji wskazany przez Habilitantkę jako osiągnięcie wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) wnosi istotny, oryginalny i ważny wkład do wiedzy światowej, a zaplanowane, przeprowadzone i przeanalizowane przez Habilitantkę eksperymenty jak również będące ich efektem publikacje wskazują na to, że dr n. med. Elżbieta Ziemińska jest w pełni dojrzałym pracownikiem nauki zasługującym na pozycję samodzielnego pracownika naukowego.

2. Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej Habilitantki

Analiza dorobku naukowego Habilitantki wskazuje na ukierunkowanie na pracę badawczą będącą główną, wręcz dominującą nad pracą dydaktyczną i popularyzatorską, płaszczyzną jej aktywności zawodowej. Aktywność dydaktyczna Habilitantki dotychczas obejmowała opiekę naukową nad studentami z kilku jednostek takich jak Wydział Chemii Politechniki Warszawskiej (2 osoby), Wydział Nowych Technologii i Chemii Wojskowej Akademii Technicznej (2 osoby) i Biotechnologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (1 osoba) oraz opiekę naukową nad pracą magisterską z Biofizyki Molekularnej 1 magistranta z Uniwersytetu Warszawskiego. Ponad to dr Ziemińska uczestniczyła również w szkoleniu dwojga doktorantów prowadzącymi

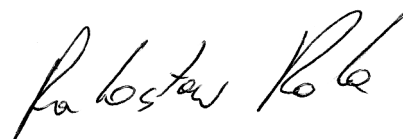
prace badawcze w Zakładzie Neurochemii IMDiK PAN. Obowiązki dydaktyczne dr Ziemińskiej obejmują również funkcję promotora pomocniczego w 1 przewodzie doktorskim.

Aktywność organizacyjna Habilitantki znajduje odzwierciedlenie głównie we wspólnych projektach badawczych – dr Ziemińska we współpracy z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym bierze udział w badaniach metabolomicznych związanych z zaburzeniami lipidowymi w patogenezie stwardnienia rozsianego (Klinika Neurologii WUM) oraz różnicowaniu rozwarstwień i tętniaków (Klinika Chirurgii Naczyń WUM). Anologiczny udział dr Ziemińska bierze we wspólnym projekcie Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN oraz Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w zakresie zaburzeń lipidowych i ich roli w patogenezie i wczesnej diagnostyce sarkoidozy.

Kolejnym elementem ścieżki kariery Habilitantki jest współpraca międzynarodowa w ramach której odbyła ona 4 - miesięczny pobyt w Zakładzie Toksykologii Instytutu Medycyny Środowiskowej Karolinska Institute w Sztokholmie, gdzie szkoliła się w zakresie metodyki zakładania i prowadzenia hodowli komórek ziarnistych mózdzku szczura. Ponadto dr Ziemińska w ramach wspólnego projektu z Laboratorium Syntezy Naturalnych Produktów i Chemii Bioorganicznej NCSR DEMEKRITOS w Atenach przeprowadzała badania nad narzędziami dla potrzeb oceny funkcjonowania receptora rianodynowego w neuronach. Wynikiem tej współpracy są 2 publikacje.

Podsumowanie

Stwierdzając, że dr n. med. Elżbieta Ziemińska spełnia wszystkie wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego w rozumieniu rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz.U. 2011 nr 196 poz. 1165) wnoszę o dopuszczenie dr n. med. Elżbiety Ziemińskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.



Lublin, dnia 16.01.2017 r.