



Dr hab. Wojciech Dzwolak, prof. U.W.
wdzwolak@chem.uw.edu.pl

Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski
ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa

Warszawa, 28 grudnia 2016

Recenzja rozprawy habilitacyjnej i dorobku naukowego dr inż. Marzeny Kastyak-Ibrahim pt.: *“Testowanie granic mikro-obrazowania: Rozwój i zastosowanie wybranych metod mikro-obrazowania zmian w ośrodkowym układzie nerwowym związanych z procesami neurodegeneracyjnymi”*.

Sylwetka Habilitantki

Dr inż. Marzena Kastyak-Ibrahim, absolwentka Wydziału Fizyki Technicznej Akademii Górniczo-Hutniczej oraz Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego obroniła swoją pracę doktorską pt. *“Chemical characterization and imaging of creatine deposits in human central nervous system tissue with infrared and X-Ray fluorescence spectromicroscopy”* w 2009 roku na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH pod kierunkiem dwojga promotorów: prof. Marka Lankosza oraz dr Kathleen Gough z University of Manitoba w Kanadzie. Dr Kastyak-Ibrahim kontynuowała tematykę obrazowania tkanek opartego o spektroskopię w podczerwieni oraz współpracę badawczą z kanadyjskimi partnerami już po doktoracie w formie stażu podoktorskiego na University of Manitoba i pracy akademickiej (University of Manitoba, University of Winnipeg, University of Calgary) czego rezultatem jest recenzowana rozprawa habilitacyjna *“Testowanie granic mikro-obrazowania: Rozwój i zastosowanie wybranych metod mikro-obrazowania zmian w ośrodkowym układzie nerwowym związanych z procesami neurodegeneracyjnymi”*.

Ocena rozprawy habilitacyjnej i dorobku naukowego

Współczesna wiedza na temat etiologii dużej grupy procesów neurodegeneracyjnych jest wciąż niewystarczająca, co przekłada się m.in. na brak skutecznych terapii wielu powiązanych z nimi chorób. Problem ten dotyczy zarówno schorzeń, których przebieg wiąże się z pojawieniem się specyficznych agregatów nieprawidłowo zwiniętych białek (bądź ich fragmentów) – tzw. włókien amyloidowych – tak, jak ma to miejsce w przypadku chorób Alzheimera czy Parkinsona, jak i tych, w których procesy nieprawidłowego formowania się struktur przestrzennych białek wydają się nie odgrywać inicjującej roli – przykładem może być tu stwardnienie zanikowe boczne (choroba Lou Gehriga). I w jednym, i w drugim przypadku procesy neurodegeneracyjne prowadzą do charakterystycznych zmian rozkładów

przestrzennych bio(makro)molekuł w tkance nerwowej, które mogą być analizowane z użyciem różnych metod optycznych i rezonansowych. Obrazowanie tych zmian w skali mikro jest ważne nie tylko z punktu widzenia diagnostyki klinicznej tych chorób, ale również w kontekście fundamentalnych studiów nad ich mechanizmami nakierowanych na znalezienie nowych, skutecznych strategii terapeutycznych. W ten nurt badań zapoczątkowany w oparciu o klasyczną mikroskopię optyczną (wspomagana m.in. specyficznym oddziaływującym z włóknami amyloidowymi barwnikiem: czerwienią Kongo) od wielu lat wprowadzane są coraz to nowe techniki obrazowania, włączając spektroskopię absorpcyjną w podczerwieni i magnetyczny rezonans jądrowy. Tej problematyce z pogranicza diagnostyki klinicznej, histopatologii i spektroskopii molekularnej poświęcone są wysiłki wielu grup badawczych z całego świata, wśród nich również tych, w których Habilitantka prowadziła i prowadzi badania w trakcie swojego doktoratu i już po jego zakończeniu.

Na rozprawę habilitacyjną dr inż. Kastyak-Ibrahim składa się poprzedzony autoreferatem cykl sześciu wieloautorskich publikacji (oznaczonych symbolami [H-1] .. [H-6]); w czterech z nich Habilitantka jest pierwszym autorem ([H-1], [H-4], [H-6]) bądź ma wkład równoważny pierwszemu autorowi ([H-2]), a w jednej jest również autorem korespondującym ([H-6]). Dane te wynikają z mojej lektury tych prac i oświadczeń współautorów, ale, co trzeba podkreślić, są również w częściowej sprzeczności z deklaracjami samej Habilitantki co do jej wkładu do poszczególnych publikacji. Do kwestii tej powrócę jeszcze w dalszej części recenzji. Artykuły składające się na rozprawę zostały opublikowane w dobrych ([H-2], [H-4]) bądź przeciętnych (np. [H-3], [H-5]) czasopismach z Listy Filadelfijskiej. Ich całkowity współczynnik oddziaływania osiąga pułap 18,296 (dla wartości IF z roku 2015), a całkowita liczba ich cytowań bez autocytowań wg bazy danych scjentometrycznych Web of Science zamyka się na dzień 28.12.2016 liczbą 90. Biorąc pod uwagę fakt, iż trzy z przedłożonych prac zostały opublikowane jeszcze w roku 2010, a trzy pozostałe w kolejnych latach (jedna na rok, ostatnia praca została opublikowana w roku 2013) te wskaźniki cytowań należy uznać za umiarkowane, choć akceptowalne. Gdy uwzględnić wszystkie pozostałe publikacje Habilitantki (tj. dwie powstałe jeszcze w ramach doktoratu na AGH) całkowita liczba cytowań bez autocytowań Jej prac wynosi 145 przy indeksie Hirscha równym 7. Liczba cytowań wszystkich publikacji Habilitantki jest więc znacząco niższa od tej wykazanej w Jej autoreferacie, a uzyskanej z bazy Google Scholar w dniu 2.07.2016 (183 cytowania). Wybór przez Habilitantkę tej bazy danych jest niefortunny biorąc pod uwagę tendencje Google Scholar do „zawyzania” parametrów cytowań w porównaniu do bardziej konserwatywnych i przyjętych za standardy narzędzi, takich jak Web of Science (co wynika z faktu, iż w obliczanych przez Google Scholar liczbach cytowań zawarte są autocytowania, cytowania w pracach doktorskich i niektórych abstraktach konferencyjnych, etc.).

Zdecydowana większość włączonych do rozprawy prac (pięć z sześciu) wykorzystuje spektroskopię absorpcyjną w podczerwieni (z transformacją Fouriera i synchrotronowymi źródłami światła) do analizy zmian neurodegeneracyjnych tkanek. Reprezentatywnym przykładem jest tu praca [H-2] (Kuzyk et al. "Association among amyloid plaque, lipid, and creatine in hippocampus of TgCRND8 mouse model for Alzheimer disease." *J. Biol. Chem.* 285 (2010) 31202), w której wykorzystano fakt, iż w widmie IR zmienionych patologicznie wycinków hipokampu transgenicznej myszy TgCRND8 można jednocześnie obserwować (w różnych zakresach liczb falowych) drgania pochodzące od złożeń amyloidu A β (przesunięte ku niższym częstościom pasmo Amid I), pochodzące głównie od lipidów drgania rozciągające C-H, oraz typowy dla kreatyny dublet w okolicach 1410-1384 cm⁻¹. Przedstawione w tej pracy badania

skupiały się na poszukiwaniach korelacji występowania lipidów, nieprawidłowo zwiniętego białka i intruzji kreatyny. Zaobserwowana korelacja sygnałów IR lipidowych i A β (przy braku wyraźnej korelacji pomiędzy występowaniem wytrąceń kreatyny a dwoma pozostałymi indywiduami) jest raczej ilustracją znanych już od wczesnych lat dziewięćdziesiątych ścisłych związków między gromadzeniem się A β a jego asocjującymi oddziaływaniami z membranami lipidowymi (np. Arispe et al. "Giant multilevel cation channels formed by Alzheimer disease amyloid beta-protein [A beta P-(1-40)] in bilayer membranes." *PNAS* 90 (1993) 10573). Oczywiście tego rodzaju prace pozostają ważne i interesujące z punktu widzenia histopatologii i rozwoju technik obrazowania, nawet wtedy gdy nie wydają się wnosić radykalnie nowych informacji na temat molekularnych mechanizmów neurodegeneracji, czy też tworzyć nowych narzędzi ich badania. Należy wspomnieć, że silną korelację przestrzenną sygnałów IR pochodzących od lipidów i rdzenia amyloidu A β w transgenicznym modelu mysich zaobserwowano również – m.in. dzięki zastosowaniu efektywniejszych źródeł i detektorów podczerwieni – w innej pracy przedkładanej w ramach recenzowanej rozprawy habilitacyjnej ([H-4] Kastyak-Ibrahim et al. "Biochemical label-free tissue imaging with subcellular-resolution synchrotron FTIR with focal plane array detector." *Neuroimage* 60 (2012) 376).

W pracy [H-1] (Kastyak et al. "Pigmented creatine deposits in Amyotrophic Lateral Sclerosis central nervous system tissues identified by synchrotron Fourier Transform Infrared microspectroscopy and X-ray fluorescence spectromicroscopy." *Neuroscience* 166 (2010) 1119) autorzy wykorzystują synchrotronową mikroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera oraz fluorescencję rentgenowską (XRF) szukając możliwych korelacji w rozkładzie przestrzennym wybranych metali (m.in. żelaza, którego wyższe lokalne stężenie mogłoby implikować obecność hemoglobiny (z erytrocytów), bądź chelatującej jony żelaza neuromelaniny) z obecnością mikrowytrąceń kreatyny. Chociaż w pracy tej nie zaobserwowano takich istotnych korelacji, postawiono tam ciekawą tezę, iż obecność złogów kreatyny może wskazywać na dysfunkcje mitochondrialne powiązane z etiologią samej choroby.

Technika mikroskopii w podczerwieni została wykorzystana w pracy [H-5] (Stitt et al. "Tissue acquisition and storage associated oxidation considerations for FTIR microspectroscopic imaging of polyunsaturated fatty acids." *Vib. Spectrosc.* 60 (2012) 16) w badaniu trwałości pewnych nienasyconych kwasów tłuszczowych jako biomarkerów próbek *ex vivo*. Z kolei, włączona również do rozprawy publikacja [H-3] (Gough et al. "Theoretical and experimental considerations for interpretation of amide I bands in tissue." *Vib. Spectrosc.* 53 (2010) 71) jest pracą głównie *in silico*, w której bardzo krótkie oligopeptydy glicynowe zostały wykorzystywane do modelowania różnych konformacji białkowych, w tym również tych zbliżonych do drugorzędowych motywów strukturalnych dominujących w fibrylach amyloidowych. Myślę, że z trafnością założeń tej pracy i wybranego modelu (m.in.: sekwencje poly-Gly nie wykazują skłonności do przyjmowania regularnych struktur α -helikalnych czy β -kartkowych) można by dyskutować, jednak zważywszy na dość oczywisty fakt niewielkiego wkładu Habilitantki w tę część pracy wdawanie się z Nią w polemikę na ten temat jest, jak sądzę, niepotrzebne.

Ostatnia włączona do rozprawy praca ([H-6] - Kastyak-Ibrahim et al. "Neurofibrillary tangles and plaques are not accompanied by white matter pathology in aged triple transgenic-Alzheimer disease mice." *Magn Reson Imaging* 31 (2013) 1515) jest również jedyną, w której główną wykorzystywaną techniką obrazowania nie jest spektroskopia w podczerwieni lecz magnetyczny rezonans jądrowy (MRJ). Konkluzja

tej pracy sprowadza się do braku widocznych w MRJ zmian w substancji białej mózgow transgenicznych myszy z zaawansowaną (w sensie histopatologicznym) chorobą Alzheimera.

W przedstawionych w ramach rozprawy *“Testowanie granic mikro-obrazowania: Rozwój i zastosowanie wybranych metod mikro-obrazowania zmian w ośrodkowym układzie nerwowym związanych z procesami neurodegeneracyjnymi”* pracach trudno jest mi znaleźć znaczące odkrycia naukowe czy też istotny, nietrywialny wkład w rozwój metod obrazowania tkanek ośrodkowego układu nerwowego. Z drugiej jednak strony, prace te wnoszą niewątpliwie pewien, nawet jeśli inkrementalny, wkład w rozwój dziedziny – były one pozytywnie ocenione w niezależnym procesie peer review przez recenzentów i edytorów publikujących je periodyków. Również parametry ich cytowań świadczą o pewnym odzewie środowiska badaczy zajmujących się problematyką obrazowania tkanek. Zważywszy jednak na ich wieloautorski charakter i fakt, iż rolą recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym jest nie tyle ocena poziomu publikacji całego zespołu naukowego co indywidualnego wkładu habilitanta w te badania, sformułowanie opinii musi być poprzedzone wnikliwą analizą autoreferatu i udziałów poszczególnych współautorów publikacji składających się na rozprawę habilitacyjną.

Muszę przyznać, że sposób w jaki Habilitantka przygotowała autoreferat nie ułatwił mi tego zadania – nie jest on logicznie i przejrzysto ustrukturyzowany, tak by efektywnie przedstawić czytelnikowi wyniki badań Autorki jednoznacznie wskazując Jej konkretne osobiste osiągnięcia poznawcze. W lekturze autoreferatu nie pomaga przemieszanie akapitów prezentujących wprowadzenie metodologiczne i tych omawiających rezultaty badań wchodzących w skład rozprawy. Jednak mój poważny niepokój wywołały dopiero liczne przeoczenia, błędy merytoryczne, nietrafne sformułowania i potknięcia pojawiające się nawet tam, gdzie Habilitantka powinna czuć się najbardziej kompetentna – np. przy omawianiu elementarnych podstaw spektroskopii w podczerwieni białek. Zabrakło mi tu niechby i zwięzłych, ale *uwspółcześnionych* rozważań na temat specyfiki widm IR fibryli amyloidowych, które mogłyby pogłębić interpretację wielu przedstawionych tu wyników eksperymentalnych, a z całą pewnością zastąpić bardzo uproszczony i arbitralny, a przede wszystkim niepotrzebny opis „podstaw” spektroskopii w podczerwieni.

W tym fragmencie autoreferatu zdumiały mnie pewne sformułowania (np. *„Każdy peptyd o liczbie aminokwasów równej n, posiada n drgań podstawowych.”*, czy *„Intensywność drgań uzyskuje się poprzez różniczkowanie funkcji falowej.”* – to ostatnie zapewne jest efektem niefrasobliwego tłumaczenia bardziej zniuansowanego *„The calculation incorporates analytical derivatives of the entire molecular wavefunction to yield intensities.”* z pracy [H-3]), błędy w opisie metodologii (powtarzające się „B3LYP/6-31” zamiast „B3LYP/6-31+G(d)”, etc. Tego rodzaju bardzo „niefortunne” zdania i pomyłki nie powinny wyjść spod ręki osoby, której główną kompetencją, co wynika z dotychczasowego przebiegu kariery naukowej, powinna być spektroskopia w podczerwieni bio(makro)molekuł.

W duże zakłopotanie wprawiła mnie lektura deklaracji wkładu własnego Habilitantki do poszczególnych publikacji. Już w przypadku publikacji [H-1] (6 współautorów) dr Kastyak-Ibrahim ocenia swój wkład na 65%. Jej zaangażowanie tu ma również obejmować wysłanie manuskryptu do publikacji i korespondencję z recenzentami, choć wskazanym na pierwszej stronie artykułu autorem korespondującym jest dr Gough (która potwierdza ten fakt w swoim oświadczeniu co do jej wkładu do tej pracy). W pracy [H-2] (10 współautorów!) Habilitantka szacuje swój wkład na 75%, choć występuje ona tam jako drugi z dwóch równorzędnych współautorów (obok A. Kuzyk)! Czy należy zatem rozumieć, że sumaryczny udział tylko

dwóch pierwszych autorów tej publikacji wynosi 150% ? Wyliczając rodzaje swojego zaangażowania w pracę [H-2] Habilitantka pisze: „...Przygotowałam końcową wersję publikacji, wysłałam manuskrypt do publikacji, korespondowałam z recenzentami.” Jednak stoi to w jaskrawej sprzeczności ze wskazanym na pierwszej stronie artykułu autorem korespondującym (dr Gough), która potwierdza to w swoim oświadczeniu pisząc: „...I had primary responsibility for writing the text of the manuscript, with input and advice from all co-authors. As corresponding author, I also handled submission, response to reviewers and final manuscript edits...”. W głównie teoretycznej pracy [H-3] Habilitantka (trzeci autor z pięciu) określa swój wkład pracy na 40% (rejestracja kilku widm w podczerwieni tkanek do dyskusji wyników teoretycznych). W pracy [H-4] (7 współautorów, dr Gough korespondujący – j.w.) udział Habilitantki ma według Jej słów wynosić 65% (ma w tym zawierać się przygotowanie manuskryptu i korespondencja z recenzentami – co, jak poprzednio, nie znajduje potwierdzenia w odnoszącym się do tej pracy fragmencie deklaracji dr Gough), natomiast w artykule [H-5] (dr Kastyak-Ibrahim jest drugim autorem z 6) jej udział ma wynosić 50%. Wreszcie w ostatniej, mającej 7 współautorów pracy ([H-6]) i jedynej, w której status Habilitantki jako autora korespondującego nie może budzić wątpliwości Jej zaangażowanie ma wynosić 90% (sic!). Trudno jest przyjąć ten szacunek jako wiarygodny – zwłaszcza, że podstawową stosowaną tu metodą jest obrazowanie w oparciu o magnetyczny rezonans jądrowy – technikę, w której stosowaniu Autorka nie miała wcześniej udokumentowanego publikacjami doświadczenia. Czy istotnie sumaryczny wkład pozostałych sześciu współautorów tej pracy nie przekroczył 10% ?

Tak więc, w zadeklarowanym przez Habilitantkę „zakresie osobistego wkładu w publikacje przedłożone jako podstawa postępowania habilitacyjnego” z przykrością dostrzegam przejawy systematycznego zawyżania Jej rzeczywistego wkładu do tych publikacji i przeinaczania roli, jaką odegrała w ich powstaniu.

W tym kontekście należy zaznaczyć, że współpromotor doktoratu Habilitantki (dr Gough) jest również współautorem wszystkich (z wyjątkiem jednej) publikacji składających się na ocenianą rozprawę, a tematyka „habilitacyjna” pozostaje bardzo silnie powiązana z tematyką samego doktoratu. Dr Kastyak-Ibrahim nie uzyskała osobiście jakichkolwiek grantów naukowych dedykowanych prowadzonym przez nią badaniom, a w jej autoreferacie brak jest informacji o zaproszonych wykładach, czy prezentacjach ustnych z tej tematyki na istotnych konferencjach międzynarodowych (nie są nimi bowiem wyszczególnione referaty o tematyce dydaktycznej). Z przedstawionych informacji wynika jasno, że nie była jak do tej pory zapraszana do recenzowania jakichkolwiek publikacji naukowych ani projektów badawczych. Fakty te zdają się świadczyć, że dr Kastyak-Ibrahim nie osiągnęła samodzielności w prowadzeniu badań i rozpoznania w środowisku naukowym, jakich należałoby się spodziewać po dynamicznie rozwijającym się i *usamodzielniającym się* uczonym.

Wreszcie, muszę zauważyć, iż poza sześcioma publikacjami składającymi się na rozprawę habilitacyjną, dr Kastyak-Ibrahim nie opublikowała po doktoracie jakichkolwiek innych prac w czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej. Z tej perspektywy, Jej całkowity dorobek publikacyjny należy ocenić jako skąpy.

Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego

W swoim résumé Dr Kastyak-Ibrahim wspomina, że w trakcie swojej pracy na University of Manitoba była wykładowcą biochemii, a później również wykładowcą fizyki w „International College of Manitoba”,

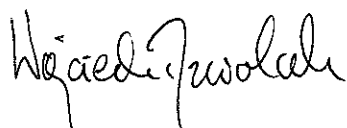
natomiast obecnie koordynuje studia licencjackie na Wydziale Fizyki i Astronomii Uniwersytetu Calgary. Jej zaangażowanie dydaktyczne wiązało się z opieką nad studentami, ich projektami, współautorstwem skryptów dla studentów. Należy odnotować też, że Dr Kastyak-Ibrahim wygłaszała referaty poświęcone dydaktyce akademickiej na specjalistycznych konferencjach, ma także na swoim koncie wystąpienia popularnonaukowe. Myślę, że Jej dorobek dydaktyczny i organizacyjny należy uznać za solidny i satysfakcjonujący.

Podsumowanie

Na ocenie całości dorobku Habilitantki w szczególności sposób zaważyć musi ocena jej rozprawy, składających się na nią publikacji i wreszcie udziału w nich Dr Kastyak-Ibrahim. O ile nie ulega wątpliwości, że przedłożone publikacje mają walory naukowe, o tyle rzeczywisty udział w nich Dr Kastyak-Ibrahim może być przedmiotem dyskusji. Ponadto, w kontekście ich wieloautorskiego charakteru oraz zasygnalizowanych wcześniej wniosków wyciągniętych z wnikliwej lektury autoreferatu zastanawiam się gdzie tak naprawdę leży obszar ścisłych kompetencji Habilitantki – nie jest nim na pewno histopatologia kliniczna ani neurologia, ale czy jest nim istotnie spektroskopia układów biologicznych i tkanek? Całe portfolio Dr Kastyak-Ibrahim obejmuje tylko 8 publikacji z Listy Filadelfijskiej, brak w nim grantów badawczych, istotnych wystąpień konferencyjnych (powiązanych z tematyką badań), brak patentów czy wyrażającego się zapraszaniem do recenzowania publikacji/projektów przejawów „zauważenia” przez środowisko naukowego. Wszystko to musi rodzić fundamentalne wątpliwości czy dorobek Dr Kastyak-Ibrahim spełnia warunki merytoryczne, o których mowa w Ustawie o stopniach i tytule naukowym z 14 marca 2003 r.

Prowadzi mnie to do sformułowania następującego wniosku:

Stwierdzam, że dr inż. Dr Kastyak-Ibrahim nie spełnia warunków sformułowanych w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym stawianych osobom starającym się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego. Wniosek w tej sprawie uważam za przedwczesny i wnoszę o niedopuszczenie dr inż. Dr Kastyak-Ibrahim do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.



Wojciech Dzwolak