

Ocena dorobku naukowego, działalności dydaktycznej i organizacyjnej oraz indywidualnego osiągnięcia naukowego Dr Adrianny Kubis-Kubiak

pt. „Analiza mechanizmów patofizjologicznych leżących u podstaw progresji choroby Alzheimer’a ze szczególnym uwzględnieniem wpływu zaburzeń metabolicznych”

Ocena dokonana została na podstawie przesłanych dokumentów przez Radę Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

1. Dane biograficzne habilitantki

Pani dr n. biol. Adrianna Kubis-Kubiak w roku 2002 ukończyła studia na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego (UW) uzyskując dyplom magistra w dziedzinie biotechnologii, natomiast później kontynuowała badania w tej samej jednostce UW zakończone obroną pracy doktorskiej i uzyskaniem dyplomu doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii w roku 2008.

Przebieg kariery zawodowej:

2002 - 2003 wolontariusz w Laboratorium Immunochemii, Katedry Chemii Ogólnej, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk.

2003 - 2008 - doktorant dziennych studiów doktoranckich w Laboratorium Biotechnologii Białek Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Praca doświadczalna wykonywana w Laboratorium Immunochemii, Katedry Chemii Ogólnej, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk.

2008 - 2013 - stanowisko Post-Doc w Laboratorium Neuropatologii Oddziału Neurologii V, I.R.C.C.S. Narodowy Instytut Neurologiczny "Carlo Besta", Mediolan, Włochy.

2014 do chwili obecnej - stanowisko adiunkta w Katedrze i Zakładzie Toksykologii Wydziału Farmacji Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

2016 do chwili obecnej Kierownik Pracowni Toksykologii Molekularnej w Katedrze i Zakładzie Toksykologii Wydziału Farmacji

- 2. Ocena osiągnięcia naukowego w rozumieniu ustawy z dnia 20 lipca 2018 /Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, art. 219 ustawy, opublikowane Dziennik Ustaw RP 30 sierpnia 2018/.**

Do oceny jako osiągnięcie naukowe habilitantka wskazała cykl sześciu powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w latach 2019-2023 mający łączny współczynnik wpływu (Impact Factor, IF): 31,009, pod wspólnym tytułem: „**Analiza mechanizmów patofizjologicznych leżących u podstaw progresji choroby Alzheimer’a ze szczególnym uwzględnieniem wpływu zaburzeń metabolicznych**”.

Na przedstawiony cykl składają się następujące cztery oryginalne publikacje:

- P1.** Kubis-Kubiak A., Rorbach-Dolata A., Piwowar A. (2019) Crucial players in Alzheimer's disease and diabetes mellitus: friends or foes? *Mech. Ageing Dev.* 181:7-21.
DOI:10.1016/j.mad.2019.03.008 IF: 4,304 Pkt. MEiN: 100
- P2.** Kubis-Kubiak A., Dyba A., Piwowar A. (2020) The interplay between diabetes and Alzheimer's disease - in the hunt for biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* 21;8:2744. DOI:10.3390/ijms21082744
IF: 5,923 Pkt MEiN: 140
- P3.** Wiatrak, B., Kubis-Kubiak, A., Piwowar, A., Barg, E. (2020). PC12 Cell Line: Cell Types, Coating of Culture Vessels, Differentiation and Other Culture Conditions. *Cells*, 9(4), 958.
DOI: 10.3390/cells9040958 IF:6.600 Pkt. MEiN: 140
- P4.** Kubis-Kubiak A, Wiatrak B, Piwowar A. (2021) The Impact of High Glucose or Insulin Exposure on S100B Protein Levels, Oxidative and Nitrosative Stress and DNA Damage in Neuron-Like Cells. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(11):5526. DOI: 10.3390/ijms22115526
IF:6.208 Pkt. MEiN: 140
- P5.** Kubis-Kubiak A., Wiatrak B., Piwowar A. (2022) Hyper-glycaemia or insulinemia modulates S100B, S100A8, amyloid β 1-40 and 1-42 secretion and induce morphological changes in dopaminergic neurons. *Biomed. Pharmacother.* 156:113869. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113869 IF: 7.419 Pkt MEiN: 100
- P6.** Kubis-Kubiak A., Wiatrak B., Piwowar A. (2023) Comparison of physiological state and conditions imitating the comorbidity of type 2 diabetes with Alzheimer's disease. The impact on: proliferation, H₂O₂, A β ₄₂, S100A8, S100B levels, neuronal protrusion and neurogenesis. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research* 2023; Vol. 80 No. 4 pp. 675-692, 2023
DOI: 10.32383/appdr/171296; IF: 0.555 Pkt MEiN: 140.

W 5 publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem. Dwie z nich to prace przeglądowe pozostałe 4 są pracami oryginalnymi opublikowanymi w czasopismach o zasięgu międzynarodowym (Elsevier, MDPI), ostatnia z publikacji w *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. Wszyscy współautorzy opublikowanych prac złożyli oświadczenia odnośnie własnego udziału w wymienionych publikacjach. Z złożonych oświadczeń współautorów wynika iż Habilitantka miała wiodący lub też istotny udział w

zakresie powstawania (hipotezy badawcze), realizacji (zebranie materiału badawczego, wykonywanie dowodów) oraz przygotowaniu manuskryptów do publikacji.

W opublikowanym cyklu sześciu prac Habilitantka w pierwszych dwóch będących pracami przeglądowymi omawia istniejące współzależności dotyczące choroby Alzheimera (AD) oraz cukrzycy typu 2 (T2DM) podkreślając iż ostatnimi czasy wielu badaczy skłania się do poglądu iż AD ma wiele cech choroby metabolicznej manifestujących się deficytami w wykorzystaniu glukozy w OUN prowadzące do upośledzenia funkcji poznawczych. Stwierdzono też dodatnią korelację pomiędzy wystąpieniem hiperglikemii i hiperinsulinemii a zwiększonym ryzykiem wystąpienia blaszek starczych. Habilitantka zwraca również uwagę –na podstawie obserwacji innych badaczy na fakt iż insulinooporność może przyczyniać się do przyspieszenia procesów hiperfosforylacji białka tau i neurofilamentów a w konsekwencji do zwiększenia ilości splotków neurofibrylarnych. Habilitantka omawiając pewne zagadnienia w ramach tych dwóch prac przeglądowych zwróciła uwagę na rolę produktów końcowych glikacji (AGE) oraz ich receptorów (RAGE) w zakresie istniejących współzależności T2DM z chorobami neurodegeneracyjnymi. Ciekawym wydaje się też omówienie roli białek z rodziny S100 w patogenezie chorób neurozwyrodnieniowych i metabolicznych zarazem.

Trzecia z zamieszczonych publikacji (zgodnie z numeracją listy cyklu powyżej-P3) jest pracą oryginalną dotyczącą głównie charakterystyki modelu badawczego komórek linii PC12 hodowanego na różnych podłożach różnicowanych ludzkim lub szczurzym NGF. W 4 publikacji (P4) Habilitantka analizuje rolę białka S100B i jego translokacje w różnicowanych komórkach PC12 przy zaburzonej homeostazie glukozy/insuliny. W tejże pracy Habilitantka pokazuje również uszkodzenie nici DNA przy różnych stężeniach glukozy i insuliny. Patrząc na użytą skalę stężeń glukozy może dobrze byłoby utrzymać tą samą skalę stężeń użytą w przypadku badania poziomu ROS czy poziomu NO (50, 100, 150 mM) w dalszej części pracy badając poziomy białka 100B (50,100,200 mM). Ciekawą obserwacją było stwierdzenie obniżenia zewnątrzkomórkowego poziomu białka S100B przy jednoczesnym wzroście jego poziomu wewnątrzkomórkowego wraz z rosnącymi stężeniami glukozy oraz insuliny. Jednak stwierdzenie Habilitantki- cytuje „komórkowe białko S100B może zachowywać się jako czynnik neuroprotektoryjny przeciwko zewnątrzkomórkowym wahaniom glukozy/insuliny” nie mają za bardzo odzwierciedlenia w uzyskanych wynikach. Szkoda że Habilitantka ograniczyła w tej pracy swoje zainteresowanie w aspekcie roli białek S100 tylko do obserwacji zmian poziomu białka S100B.

W pracy badawczej nr 5 (P5) Habilitantka używając linii komórkowej SH-SY5Y zbadła przeżywalność komórek przy różnych stężeniach glukozy oraz insuliny. Stwierdziła iż przy wysokich stężeniach glukozy jak i insuliny dochodzi do spadku przeżywalności oraz aktywności proliferacyjnej badanych komórek. Habilitantka zbadła również stężenie zewnątrz i wewnątrzkomórkowych poziomów amyloidu beta 1-40 oraz 1-42 stwierdzając istotne ich obniżenie przy wysokich stężeniach glukozy i insuliny. W tej samej pracy Habilitantka oznaczyła również poziomy białka S100B oraz S100A8 gdzie zaobserwowała ich znamienne spadki w przestrzeni wewnątrzkomórkowej przy

wysokich stężeniach glukozy i insuliny. Co interesujące poziomy białka S100B w przestrzeni zewnątrzkomórkowej wzrastały przy 50 i 100 mM glukozie oraz 1 i 50 nM insuliny. Habilitantka pokazuje w tej pracy zmiany poziomów białek S100B oraz S100A8 pod wpływem zwiększonych poziomów glukozy oraz insuliny. Brakuje tu wnikięcia choć trochę w mechanizmy mogące leżeć u podstaw progresji choroby Alzheimera –na przykład poprzez zbadanie wpływu podania rekombinowanego białka S100A8 na endogenne poziomy amyloidu beta 1-40 oraz 1-42 w komórkach SHSY-5Y traktowanych wysokimi stężeniami glukozy oraz oddzielnie –wysokimi i niskimi stężeniami insuliny. Warto byłoby uzupełnić swoje badania o dodatkową grupę komórek glejowych (astroglej, mikroglej) wiadomo bowiem iż np. białko S100B jest uwalniane z astrocytów i może mieć troficzne (w stężeniach nM) lub też toksyczne (w stężeniach μ M) oddziaływanie na sąsiadujące neurony. Brakuje też uzasadnienia dlaczego Habilitantka skoncentrowała swoje badania akurat na tych 2 białkach z rodziny S100 czyli S100B oraz S100A8 gdzie wiadomym jest że oprócz nich również S100A1, S100A6, S100A7, S100A9 czy S100A12 odgrywają rolę w patologii AD.

W publikacji oryginalnej nr 6 (P6) Habilitantka ocenia przeżywalność komórek SH-SY5Y po podaniu 2 stężeń A β 1-40 oraz A β 25-35 (1 nM oraz 1 μ M) przy różnych stężeniach glukozy (1 oraz 100 mM) oraz insuliny (1 oraz 100 nM). Znamienne różnice w przeżywalności Habilitantka obserwuje głównie w komórkach traktowanych A β 25-35. Brakuje tu jednak znów odpowiednich kontroli a więc pokazania wyników na komórkach traktowanych samą glukozą czy też insuliną (co prawda habilitantka pokazuje takie wyniki w poprzedniej publikacji –P5 ale powinny zostać one powtórzone i pokazane ponownie w ostatniej pracy). Co istotne brakuje też odpowiednich kontroli (negatywnych kontroli) do podania peptydów amyloidu beta. Są to ogólnie dostępne peptydy o odwróconej sekwencji aminokwasów (reversed) np. A β 35-25 lub „scrambled” cechujące się bardzo niską toksycznością lub wręcz jej brakiem. Powyższe uwagi braku odpowiednich kontroli dotyczą większości wyników przedstawionych przez Habilitantkę w ostatniej publikacji (P6) a więc między innymi oznaczania poziomów: A β (1-42), białek S100B oraz S100A8 jak i wpływu peptydów na proliferację komórek i poziom stresu oksydacyjnego.

W części dotyczącej podsumowania głównych wyników stanowiących osiągnięcie naukowe (rozdział 4.5; str. 32-33) Habilitantka przez pierwszą część Podsumowania swoich wyników omawia niestety nie swoje wyniki dotyczące np.: „wpływu hiperglikemii na funkcjonowanie zależnych od ATP kanałów potasowych czy też ”rozpadu” A β zależnego od szlaku kinazy 3-fosfatydyloinozytolu”. Tego typu informacji nie powinno być w Podsumowaniu.

Habilitantka –przechodzi wreszcie (w połowie rozdziału 4.5) do podsumowania własnych wyników ale i tu wydaje się że pewne stwierdzenia i konkluzje Habilitantki nie mają oparcia w uzyskanych przez nią wynikach. I tak np. Habilitantka stwierdza iż w swoich badaniach wykazała: „potencjalną neuroprotektoryjną rolę białka S100B oraz ich udział w zaburzeniach metabolicznych prowadzących do

neurodegeneracji i rozwoju AD” na jakiej podstawie- własnych wyników (chyba nie) czy też jednak danych z publikacji innych autorów.

Pokazując w Podsumowaniu swoje wyniki –Habilitantka pokazuje tak naprawdę jeden wynik – mówiący że średnie i wysokie stężenia glukozy wpływają na wydzielanie białka S100B i S100A8 do przedziału zewnątrzkomórkowego neuronów dopaminergicznych. To trochę mało jak na rezultat rozprawy habilitacyjnej.

W manuskrypcie występuje wiele błędów nie tylko ortograficznych (np. „originalna” zamiast oryginalna-strona 5) ale i stosowaniu niewłaściwej terminologii, np. skąd autorka wzięła sformułowanie użyte zresztą w Podsumowaniu (str. 33) cytuje: „ tkanka neuronowa” . Można mówić o tkance nerwowej ale „neuronowej”?.

3. Charakterystyka dorobku naukowego-dane naukometryczne

Dorobek naukowy Habilitantki obejmuje publikacje o sumarycznym IF równym 71,191 i sumarycznej punktacji MNiSW równej 1332 pkt.

Wg danych Web of Science indeks Hirscha wynosi 10, a liczba wszystkich cytowań –bez autocytowań 335. Są to stosunkowo dobre wyniki wskazujące na zaangażowanie i efektywność naukową Habilitantki.

Ponadto Habilitantka uczestniczyła w pracach licznych zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych jako członek zespołu badawczego lub jako kierownik projektu (w 2 przypadkach):

Przed doktoratem:

1. Członek zespołu badawczego trzyletniego grantu pt.:”Badania nad mechanizmem działania PRP/Colostrininy – preparatu wykazującego terapeutyczne efekty w chorobie Alzheimer’a.”(Nr. 4PO5A01518) Komitetu Badań Naukowych MEiN, grant doktorancki (2003–2007).

Po doktoracie:

1. Członek zespołu badawczego projektu pt.: "Marker biologici di neurodegenerazione"- RF92-CONV.71,6 MS S LUCIA, (01.10.2008 – 31.03.2009).

2. Członek zespołu badawczego projektu pt.: "Fattori di rischio genetico e indicatori biologici periferici di conversione da mild cognitive impairment a malattia di Alzheimer – RF 112 MS Strategico (01.01.2010 – 31.12.2010).

3. Członek zespołu badawczego projektu pt.:”Mechanism of neurodegeneration and phenotypic heterogeneity in inherited prion diseases: pathophysiological involvement of prion

proteins in membrane trafficking and signaling” RA57 (01.07.2011-31.12.2011).

4. Członek zespołu badawczego projektu pt.: "Development of Alzheimer disease therapeutics based on natural variant of Amyloid-beta that hinders amyloidogenesis." – RF 136 (01.01.2013-11.04.2013)10.

5. Członek zespołu badawczego projektu naukowego pt.:“Wpływ interakcji estrogenów z metaloestrogenem na komórki gruczołu sutkowego.” realizowany w ramach środków przyznanych przez Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu. Nr. wewnętrzny simple: ST.D150.18.004 (01.10.2018 - 30.09.2019).

6. Wykonawca zadania w projekcie pn. „Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu jako Regionalny Ośrodek Doskonałości w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu” realizowanym w ramach środków przyznanych przez Ministerstwo Edukacji Nauki w programie „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” (RID) – nr umowy 016/RID/2018/19. Projekt ma przyczynić się do rozwoju badań naukowych i prac rozwojowych na Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu. Projekt numer 016/RID/2018/2019.

7. Członek zespołu badawczego projektu naukowego pt.:“ Ocena zmian ekspresji wybranych białek z rodziny urolakin (II i IIIa) w wybranych nienowotworowych chorobach urologicznych.” realizowany w ramach środków przyznanych przez Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu. Nr. wewnętrzny simple: SUB.D150.21.097 (01.10.2020-30.09.2022).

8. Członek zespołu badawczego projektu naukowego pt.:” Ocena udziału wybranych ksenobiotykyków w zaburzeniach równowagi redox u osób narażonych środowiskowo.” realizowany w ramach środków przyznanych przez Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu. Nr. wewnętrzny simple: SUBZ.D150.22.043 (1.01.2022 -31.12.2022).

9. Członek zespołu badawczego projektu pt.:”Analiza procesów neurozapalnych i demielinizacyjnych w badaniach in vitro oraz in vivo. grant badawczy przyznany przez Wrocławski Uniwersytet Medyczny, Nr. wewnętrzny simple: SUBK.D150.22.027 (1.01.2022 - 31.12.2022).

10. Kierownik projektu pt.:”Wpływ leków z grupy odwrotnej inhibitorów odwrotnej transkryptazy na homeostazę lipidów jako potencjalnych induktorów lipotoksyczności w komórkach nerwowych.” Grant badawczy przyznany przez Wrocławski Uniwersytet Medyczny. Nr. wewnętrzny simple: SUBK.D150.22.038 (1.01.2022 - 31.12.2022) projekt w toku.

11. Kierownik grantu Miniatura 6 pt.: „Modelowanie zaburzeń neuropatologicznych w naczyniu – generowanie i charakteryzowanie organoidów mózgu oraz asembloidów o różnych tożsamościach regionalnych” finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki. Nr. wewnętrzny simple: MINI.D150.22.002 (1.10.2022 - 30.09.2023) projekt w toku.

4. Istotna aktywność naukowa realizowana w więcej niż jednej uczelni

Staż badawcze

01.10.2008-15.04.2013r. Staż badawczy Post-Doc w Laboratorium Neuropatologii V, I.R.C.C.S. National Neurological Institute "Carlo Besta", Mediolan, Włochy – gdzie Habilitantka prowadziła badania przedkliniczne nad nowymi strategiami terapeutycznymi w chorobie Alzheimerera.

28.02-10.03.2020r. Staż naukowy w Center for Alternatives to Animal Testing, John Hopkins University, Baltimore, MD, USA Szkolenie w zakresie rozwoju i hodowli ko-kultur organotypowych 3D. Szkolenie z zakresu neurotoksyczności- ekspresja genów związanych ze stresem oksydacyjnym i specyficznych dla OUN, analiza uwalniania chemokin, cytokin i czynników wzrostu, ocena mielinizacji i zmian morfologicznych w neuronach. Profilowanie transkryptomu i analiza proteomiczna.

19.06.2023-07.07.2023r. Staż badawczy w Laboratorium Biomodel Platform for Human Research w „Achucarro” Basque Center for Neuroscience Research, Bilbao, Hiszpania. Habilitantka zapoznawała się z technikami hodowli ludzkich organoidów mózgowych.

Ponadto jak już zostało wspomniane w części 3 recenzji Habilitantka realizowała projekty badawcze jako członek zespołu z Instytutami/Uczelniami poza swoją macierzystą jednostką (po doktoracie pozycja 1,2,3 oraz 4). Tak więc w tym zakresie Habilitantka spełnia stawiane ustawą wymogi realizując badania zdecydowanie więcej niż w jednej jednostce naukowej.

Działalność organizacyjna i popularyzatorska: Habilitantka była dwukrotnie członkiem Komitetów Organizacyjnych Międzynarodowej Konferencji –Wrocław Scientific Meetings w latach 2019-2020. A w działalności popularyzatorskiej między innymi prowadziła warsztaty naukowe w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki w latach 2015,2018 oraz 2023.



5. Wniosek końcowy

Na podstawie przedstawionych mi do recenzji dokumentów stwierdzam że dr Adrianna Kubis-Kubiak uzyskała wystarczające do rozpoczęcia starań o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego wskaźniki IF oraz punktacji MNiSW, liczby cytowań oraz Indeksu Hirscha. Działalność organizacyjną i popularyzatorską również oceniam na wysokim poziomie. Co warte podkreślenia Pani dr Adrianna Kubis-Kubiak była członkiem zespołów naukowych w ramach realizowanych projektów badawczych zarówno w Polsce jak i zagranicą.

Niestety złożone przez panią dr Adriannę Kubis-Kubiak osiągnięcie naukowe składające się z 6 publikacji (4 prac oryginalnych oraz 2 przeglądowych) nie spełnia w mojej ocenie ustawowych wymagań/zapisów z art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. z 2023r. poz. 742 ze zm.) stawianych kandydatom do stopnia doktora habilitowanego co wykazałem w niniejszej recenzji analizując poszczególne prace Habilitantki wchodzące w skład jej osiągnięcia naukowego. W mojej ocenie Habilitantka powinna uzupełnić dotychczasowe badania o wskazane w recenzji uwagi i ponownie napisać najważniejszą część swojego autoreferatu czyli Podsumowanie- które w chwili obecnej jest napisane bardzo chaotycznie i niewiele z niego wynika.

W związku z powyższym wnoszę wniosek do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o nie dopuszczenie dr Adrianny Kubis-Kubiak do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

KIEROWNIK
Pracownia Badań Przedklinicznych Związków
Neuroprotekcyjnych i Czynników Środowiskowych
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Im. Miroslawa Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk
ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa

prof. dr hab. n. med. Robert Strosznajder

12 KWI. 2024

