

Prof. nzw. dr hab. Władysław P. Węglarz  
Instytut Fizyki Jądrowej im. H. Niewodniczańskiego  
Polskiej Akademii Nauk  
Ul. Radzikowskiego 152, 31-342 Kraków

Recenzja pracy habilitacyjnej:  
„Testowanie granic mikro obrazowania: Rozwój i zastosowanie wybranych metod  
mikro obrazowania zmian w ośrodkowym układzie nerwowym związanych z  
procesami neurodegeneracyjnymi”  
oraz ocena dorobku naukowego dr inż. Marzeny Kastyak-Ibrahim.

#### 1. Sylwetka Kandydatki

Pani Marzena Kastyak-Ibrahim uzyskała dyplom magistra inżyniera fizyki technicznej w zakresie fizyki medycznej i dozymetrii na Wydziale Fizyki i Techniki Jądrowej AGH w roku 2005. Rok później jej praca magisterska została nagrodzona w konkursie na najlepszą pracę magisterską w kategorii: Diamenty AGH. Po obronie pracy magisterskiej Pani Kastyak rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH, zakończone pracą doktorską zatytułowaną: "Chemical characterization and imaging of creatine deposits in human central nervous system tissue with infrared and X-Ray fluorescence spectromicroscopy" obronioną w roku 2009. Jednocześnie studiowała w trybie indywidualnym na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, gdzie w roku 2009 uzyskała dyplom magistra chemii. W trakcie realizacji tych prac pani Kastyak odbyła staże w zagranicznych ośrodkach naukowych: Uniwersytet Bordeaux I we Francji oraz Uniwersytet Manitoba w Winnipeg w Kanadzie. Kolejny etap kariery zawodowej dr Kastyak związany jest z pracą w kilku kanadyjskich ośrodkach naukowych. Mianowicie po ukończeniu doktoratu odbyła dwuletni staż podoktorski na Wydziale Chemii Uniwersytetu Manitoba, w trakcie którego rozpoczęła też pracę jako wykładowca biochemii na tymże Wydziale. W latach 2011-2013 odbyła kolejny staż podoktorski na Uniwersytecie Winnipeg w Winnipeg w Kanadzie finansowany przez Alzheimer Society of Canada. W latach 2013-2014 była wykładowcą fizyki w International College of Manitoba w Winnipeg w Kanadzie, zaś w latach 2013-2015 pełniła funkcję Kierownika Pracowni studenckiej na Uniwersytecie Manitoba. Od sierpnia 2015 roku jest Koordynatorem Studiów Licencjackich na Uniwersytecie Calgary w Calgary.

## 2. Ocena pracy habilitacyjnej

Jako rozprawę habilitacyjną zatytułowaną: „Testowanie granic mikro obrazowania: Rozwój i zastosowanie wybranych metod mikro obrazowania zmian w ośrodkowym układzie nerwowym związanych z procesami neurodegeneracyjnymi”, Pani dr Marzena Kastyak-Ibrahim przedstawiła cykl sześciu [H-1 do H-6] oryginalnych artykułów opublikowanych w latach 2010-2013, wraz z kilkunastostronicowym omówieniem zawartej w nich tematyki. Wszystkie publikacje są wieloautorskie, przy czym dr Kastyak-Ibrahim jest pierwszym autorem w dwu z nich zaś w kolejnym jest pierwszym współautorem. Zadeklarowany przez nią udział procentowy waha się od 40% do 90% (średnio ok. 65%). Do wniosku habilitacyjnego dołączono opisowe oświadczenia o wkładzie pracy od praktycznie wszystkich współautorów, jednak bez wskazywania ich udziału procentowego. Pięć artykułów [H1-H5] jest efektem prac badawczych realizowanych w czasie stażu podoktorskiego na Uniwersytecie Manitoba i dotyczy przede wszystkim zastosowań spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR), w tym związanego z wykorzystaniem synchrotronów jako źródła promieniowania podczerwonego (sFTIR) i rentgenowskiego (sXRF), do badań tkanek układu nerwowego u ludzi z chorobami neurodegeneracyjnymi jak również tkanek układu nerwowego zwierząt doświadczalnych z modelami schorzeń neurodegeneracyjnych (stwardnienie zanikowe boczne – ALS, choroba Alzheimera - AD). Materiał do szóstego artykułu [H-6], związanego z wykorzystaniem techniki obrazowania magnetyczno-rezonansowego (MRI) w wysokim polu magnetycznym (7T) do badań obrazowych mózgow myszy z modelem AD w warunkach *in-vivo* i *ex-vivo* dr Kastyak-Ibrahim zebrała w czasie stażu podoktorskiego na Uniwersytecie Winnipeg. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w bardzo dobrych i renomowanych czasopismach naukowych (IF w zakresie 1.747 – 6.132). Wszystkie artykuły poza H-6 są często cytowane (średnio 1,62 – 4,5 cytowań/rok).

W artykule H-1 przedstawiono wyniki analiz metodami FTIR oraz XRF tkanek układu nerwowego (mózgu i rdzenia kręgowego) pobranych od pacjentów ze stwardnieniem zanikowym bocznym. W porównaniu z wynikami uzyskanymi z tkanek zdrowych stwierdzono obecność kreatyny w niektórych upigmentowanych obszarach mózgu i w rdzeniu kręgowym. Ponadto w tkankach osób chorych wykazano obecność miejsc o podwyższonej zawartości Ca, Zn, Fe i Cu. W konkluzjach stwierdzono że zaobserwowane depozyty o podwyższonej zawartości kreatyny mogą być wskaźnikami dysfunkcyjnych procesów oksydacyjnych w niektórych przypadkach ALS.

Artykuł H-2 dotyczy analiz metodą FTIR obszarów hipokampu zmodyfikowanych genetycznie myszy TgCRND8 (model zwierzęcy AD) w porównaniu z myszami kontrolnymi, ze względu na dystrybucję lipidów, kreatyny oraz złogów amyloidowych, charakterystycznych dla AD. Nie stwierdzono różnic w rozkładzie lipidów w tkance hipokampu, natomiast stwierdzono obecność cienkiej warstwy tłuszczów wokół złogów amyloidowych, co może świadczyć o stanie zapalnym. Stwierdzono również że położenie złogów amyloidowych nie pokrywa się z położeniem złogów kreatyny, których liczba wzrasta z wiekiem myszy z modelem AD. W hipokampie myszy kontrolnych stwierdzono tylko nieliczne i mniejsze złogi kreatyny u starszych osobników, co może być oznaką normalnego procesu starzenia.

Artykuł H-3 zawiera porównanie wyników obliczeń numerycznych widm wibracyjnych (dla pasma amidowego I obserwowanego w próbkach biologicznych w technikach FTIR i Ramana) wykonanych metodą Hartree-Focka z widmami eksperymentalnymi tkanek mózgu myszy transgenicznych z modelem AD. Pomiar eksperymentalne zostały wykonane z użyciem detektorów o różnej przestrzennej zdolności rozdzielczej, co pozwoliło krytycznie przedyskutować zależność uzyskanych wyników od zastosowanych rozwiązań technicznych.

Artykuł H-4 zawiera wyniki analizy wybranych obszarów tkanki mózgu myszy transgenicznych TgCRND8 i 3xTg wykazujących różne aspekty patogenezy w AD, przy wykorzystaniu techniki pozwalającej na obrazowanie z subkomórkową rozdzielczością dostępnej w Centrum Promieniowania Synchrotronowego na Uniwersytecie Wisconsin-Madison. Linia poczerwieni (IRENI) dostępna w tym ośrodku pozwala na obrazowanie z rozdzielczością w płaszczyźnie o 2 rzędy wielkości lepszą niż w standardowej analizie, co umożliwia badanie pojedynczych komórek (neuronów). W efekcie zaobserwowano po raz pierwszy położenie pojedynczych ciał komórek nerwowych i wykryto niewidoczny wcześniej pik widma, charakterystyczny dla złogów amyloidowych. Również po raz pierwszy stwierdzono obecność niewielkiej ilości lipidów wewnątrz złogów amyloidowych a nie tylko w otoczce wokół nich. W ramach tej pracy zbadano też tkankę siatkówki oka myszy kontrolnych, co pozwoliło na określenie możliwości wykorzystania tej techniki do badań zmian tej tkanki związanych z procesami chorobowymi i wpływem składników pożywienia.

W artykule H-5 zawarto wyniki badań wpływu przygotowania i przechowywania próbek na obrazowanie techniką FTIR wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, występujących np. w błonach komórkowych siatkówki oka i mózgu. Wyniki pozwoliły na określenie ram czasowych przechowywania próbek w określonych warunkach temperaturowych oraz

ekspozycji na światło słoneczne, przy których możliwe jest wiarygodna ocena zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w tkankach biologicznych metodą FTIR.

We wszystkich badaniach opublikowanych w artykułach [H1-H5] udział Kandydatki był związany ze wszystkimi aspektami prac doświadczalnych od przygotowania próbek po analizę danych, chociaż w różnym stopniu, co jest odzwierciedlone w opisie jej wkładu oraz oświadczeniach współautorów. Analiza zawartości artykułów, ich parametrów bibliometrycznych, jak również omówienia zamieszczonego w części opisowej wniosku nie pozostawia wątpliwości co do wysokiej wartości merytorycznej wykonanych badań jak również kompetencji Kandydatki w zakresie teorii jak i praktycznej znajomości technik mikro-spektroskopii i –obrazowania w podczerwieni, w szczególności przy wykorzystaniu źródeł promieniowania synchrotronowego.

Ostatni z artykułów z cyklu prac [H-6] łączy z poprzednimi badany obiekt, to jest mózg myszy transgenicznych 3xTg z modelem AD. Natomiast używana technika pomiarowa (obrazowanie magnetyczno-rezonansowe – MRI) jest inna, w szczególności w aspekcie możliwości wykonania nie tylko obrazowania *ex-vivo* ekstrahowanych organów/tkanek, ale również badań przyżyciowych *in-vivo*, umożliwiającących śledzenie postępu patologii. W artykule tym zawarto wyniki obrazowania *in-vivo* oraz *ex-vivo* mózgow myszy wykonane przy pomocy sekwencji obrazowania RARE (obrazowanie T<sub>2</sub>-ważone) oraz DTI (obrazowanie tensora dyfuzji), skorelowanych z badaniami histologicznymi, w celu sprawdzenia hipotezy o zmianach w istocie białej, poprzedzających powstanie złogów amyloidowych w AD. W efekcie analizy wyników obrazowych i histologicznych stwierdzono brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy mózgami myszy transgenicznych i kontrolnych, co zinterpretowano jako brak obecności mierzalnych zmian w istocie białej mózgu myszy 3xTg, na tym etapie rozwoju AD kiedy zostały wykonane pomiary. Chociaż wynik badań zamieszczonych w artykule nie potwierdził zakładanej hipotezy, jest to praca poprawna metodologicznie i wartościowa w tym sensie że może stanowić podstawę do kolejnych badań z innym dobozem etapu rozwoju AD na którym należałoby wykonać pomiary, bądź wyborem innego modelu zwierzęcego tej choroby, dla zaobserwowania spodziewanych zmian w istocie białej.

O ile artykuł ten oceniam jako wartościowy (został zresztą pozytywnie zweryfikowany przez recenzentów), to część opisowa wniosku habilitacyjnego dotycząca techniki MRI świadczy w mojej ocenie o powierzchownej znajomości tej techniki przez Kandydatkę. Choć opis ten jest w ogólności poprawny w sensie omówienia możliwości obrazowania struktur mózgu, to przy opisie podstaw technik MRI pojawiają się nieścisłości i/lub niezręczne sformułowania, na

przykład takie jak to że relaksacja poprzeczna jest charakteryzowana przez czas  $T_1$  i  $T_2$ , zamienne i niekonsekwentne używanie pojęcia spinu i magnetyzacji, czy używanie sformułowań typu: „sekwencja spinowa echa”. Ponadto mam zastrzeżenia do zamieszczonego w tabeli 2 zestawienia możliwości i ograniczeń używanych technik. Jeśli chodzi o technikę MRI są to raczej ograniczenia wynikające z używanej przez dr Kastyak-Ibrahim aparatury niż ograniczenia tej metody obrazowania. Przykładowo, z wykorzystaniem aparatury MRI 9.4T dostępnej w Krakowie wykonywane były pomiary strukturalne mózgow myszy w warunkach *iv-vivo* z rozdzielczością  $60 \times 80 \times 100 \mu\text{m}^3$ , zaś w przypadku pomiarów *ex-vivo* z rozdzielczością  $50 \times 50 \times 50 \mu\text{m}^3$ , a więc z pięciokrotnie mniejszym rozmiarem vokselu niż wskazane w tabeli 2 jako ograniczenia techniki.

Generalnie lektura zaprezentowanej przez Kandydatkę części opisowej wniosku habilitacyjnego pozostawia pewien niedosyt. Przede wszystkim ze względu na liczne usterki redakcyjne w całym tekście, jak również pomyłki i niekonsekwencje w nazewnictwie w części poświęconej technikom MRI. O ile do pewnego stopnia wydaje się zrozumiałe że polska terminologia związana z techniką MRI dla osoby pracującej na co dzień w środowisku anglojęzycznym może nie być w pełni przyswojona, to na liczne usterki redakcyjne trudno znaleźć usprawiedliwienie, poza być może pośpiechem w przygotowywaniu tekstu wniosku.

Reasumując, stwierdzam że przy wspomnianych uwagach krytycznych, zaprezentowane osiągnięcie naukowe w formie cyklu prac spełnia w minimalnym zakresie wymagania stawiane rozprawom habilitacyjnym.

### 3. Ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy Kandydatki w chwili złożenia dokumentacji habilitacyjnej obejmował osiem publikacji indeksowanych w Journal Citation Reports, w tym sześć przedstawionych jako osiągnięcie naukowe we wniosku habilitacyjnym, oraz dwie wcześniejsze zawierające materiał zebrany w trakcie realizacji pracy doktorskiej. Według Web of Science (stan na dzień 2.01.2017) liczba cytowań tych publikacji wynosiła 150, zaś wskaźnik Hirscha 7. Sumaryczny Impact Factor publikacji zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 25,049.

Ponadto Kandydatka opublikowała swoją rozprawę doktorską w formie angielskojęzycznej monografii w wydawnictwie międzynarodowym.

Dr Kastyak-Ibrahim trzykrotnie prezentowała wyniki swoich badań w formie referatów podczas konferencji Kanadyjskiego Stowarzyszenia Fizyków, Serii Seminariów Farmakologicznych Uniwersytetu Manitoba oraz spotkania użytkowników Centrum

Promieniowania Synchrotronowego w Stoughton w USA. Jest też współautorką 10 doniesień prezentowanych przez współpracowników podczas konferencji, warsztatów i seminariów środowiskowych w Kanadzie oraz USA.

Kandydatka kierowała jednym projektem badawczym finansowanym przez Alzheimer Society of Canada, oraz była wykonawcą w innym projekcie finansowanym przez Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada/ Canadian Institute for Health Research.

Od roku 2013 dr Kastyak-Ibrahim skupiła się na pracy dydaktyczno-organizacyjnej, o czym świadczą wskazane w dostarczonym materiale tematy opracowań oraz referatów, przy braku publikacji o charakterze badawczym.

W podsumowaniu dotychczasowego dorobku naukowego Kandydatki stwierdzam, że jest on bardzo wartościowy w zakresie wykorzystania zaawansowanych metod spektroskopii i obrazowania w podczzerwieni do badań procesów neurodegeneracyjnych. Fakt że dorobek ten nie jest zbyt obszerny zapewne wynika ze skupienia się w ostatnich latach raczej na działalności dydaktyczno-organizacyjnej, bez jak się wydaje dalszego zaangażowania w pracę badawczą.

#### 4. Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i współpracy międzynarodowej

Dorobek dydaktyczny Kandydatki związany jest głównie z jej pracą zawodową wykonywaną w ciągu ostatnich trzech lat, kolejno jako wykładowca fizyki w International College of Manitoba w Winnipeg, kierownik pracowni fizycznej na Uniwersytecie Manitoba w Winnipeg oraz koordynator studiów licencyjnych na Uniwersytecie Calgary. Jej aktywność w tym zakresie była związana z opracowywaniem nowych materiałów do ćwiczeń laboratoryjnych oraz wdrażaniem nowych form kształcenia jak również pracami organizacyjnymi. Swoje pomysły i wprowadzone innowacje w nauczaniu studentów zaprezentowała w formie trzech referatów dla wykładowców zainteresowanych ulepszeniem swoich metod nauczania.

Wcześniej, w okresie odbywania stażu podoktorskiego sprawowała opiekę nad kilkoma studentami realizującymi projekty badawcze.

Kandydatka wskazała również kilka przykładów prowadzonej działalności popularyzatorskiej, jak referat, wywiad czy uczestnictwo w popularyzacji nauki wśród uczniów szkół średnich.

Jeśli chodzi o współpracę międzynarodową to analiza przedstawionych materiałów wskazuje, że znakomita większość dotychczasowego udokumentowanego dorobku naukowego

Kandydatki jest związana z pracą badawczą we współpracy lub na Uniwersytecie Manitoba, z wykorzystaniem możliwości pomiarowych w dwu ośrodkach promieniowania synchrotronowego w USA (SRC i NSLS). Wcześniej, okres realizacji pracy magisterskiej również był związany z pobytem w zagraniczny ośrodku naukowym (na Uniwersytecie Bordeaux I) w ramach programu Socrates-Erasmus.

Reasumując, działalność dydaktyczną i organizacyjną Kandydatki jak również współpracę międzynarodową oceniam pozytywnie.

#### 5. Wnioski końcowe

Biorąc pod uwagę przedstawioną rozprawę habilitacyjną oraz całokształt osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych Doktor Marzeny Kastyak-Ibrahim stwierdzam, że spełniają one w minimalnym zakresie wymogi Ustawy o Stopniach i Tytułach Naukowych z dnia 14.03.2003 r. niezbędne do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Kraków, 2 stycznia 2017

