



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Dr hab. Kamila Środa-Pomianek
Katedra i Zakład Biofizyki i Neurobiologii
ul. Chałubińskiego 3a
50-368 Wrocław

Wrocław, 08.09.2023

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Małgorzaty Adamiec-Organieciok
pt.: „Regulacja programowanej i nieprogramowanej śmierci komórkowej w różnych liniach
komórkowych”**

Podstawa wykonania recenzji

Recenzję wykonano na zlecenie Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej z dn. 13.07.2023 r (Uchwała Nr 63/2023 Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej).

Uzasadnienie podjęcia tematu rozprawy doktorskiej

Regulowana śmierć komórki (ang. regulated cell death, RCD), pełni istotną rolę w homeostazie organizmu, zarówno w stanach fizjologicznych, jak i patologicznych. Regulowana śmierć komórkowa może zachodzić np. na drodze apoptozy, nekroptozy lub ferroptozy. Co ważne, komórki mogą wykazywać różną wrażliwość na dany rodzaj śmierci, jedne mogą być bardziej wrażliwe, a drugie odporne na stymulację/inhibicję ścieżki sygnałowej. Zależność ta ma kluczowe znaczenie w leczeniu wielu chorób, w tym nowotworów. Umiejętność regulacji, poprzez włączenie konkretnego typu śmierci w komórce daje perspektywę nowych możliwości terapeutycznych.

Podjęta przez Panią mgr Małgorzatę Adamiec –Organieciok tematyka jest ważna i aktualna, dotyczy zrozumienia złożonych procesów dotyczących regulacji programowanej i nieprogramowanej śmierci komórkowej. Uważam wybór tematu badawczego za uzasadniony i trafny.

Ocena merytoryczna pracy, w tym celu i jej struktury

Pani mgr Małgorzata Adamiec-Organiecki postawiła sobie ambitny cel, jakim była charakterystyka różnych ścieżek śmierci komórkowych oraz próba stworzenia systemu decyzyjnego regulacji ich indukcji/wyciszenia. Doktorantka dokonała analizy danych, uzyskanych w trakcie badań *in vitro*, a następnie zestawiała je z danymi zdeponowanymi w otwartych bazach danych. Porównanie obejmowało wybrane szlaki ścieżek śmierci komórkowych, również te związanych z udziałem w regulacji ich indukcji/przebiegu/wyciszenia metali ciężkich.

Recenzowana praca doktorska została wykonana na Wydziale Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Politechniki Śląskiej pod kierunkiem dr hab. n.med. Magdaleny Skoniecznej prof. PŚ- promotora rozprawy oraz dr inż. Romana Jaksika promotora pomocniczego. W przedstawionej pracy doktorskiej znakomicie widać wykorzystanie przez Autorkę potencjału badawczego jednostki i oferowanych przez nią możliwości związanych zarówno z zapleczem aparaturowym, jak też doświadczonym zespołem naukowców.

Rozprawę doktorską stanowi bardzo dobrze napisane opracowanie, zredagowane w języku polskim na 145 stronach. Praca składa się z dziesięciu rozdziałów. Oceniana dysertacja ma tradycyjny układ z podziałem na: Wprowadzenie, Hipotezę i Cele Pracy, Wyniki, Dyskusję i Podsumowanie. Poszczególne jej części stanowią logiczną całość. Układ pracy jest przejrzysty. Poza oczywistymi elementami, jak Spis Treści czy Streszczenie (w języku polskim i angielskim), Autorka zamieściła spis ilustracji, tabel, co znacznie ułatwia czytelnikowi sprawną nawigację, choć nie znalazły się one (zapewne omyłkowo) w spisie treści-brak rozdziału 7 i 8. Pracę kończą, zwięźle przedstawiony dorobek naukowy i spis obszernej literatury (176 pozycji, wśród których jest jedynie po kilka prac sprzed roku 2000; większość to prace współczesne-połowa to prace nie starsze niż 10 lat). Treść dysertacji odpowiada tematowi określonymu w tytule.

„**Wprowadzenie**” składa się z dziewięciu podrozdziałów. Autorka w sposób kompetentny wskazuje czytelnikowi, jak ważne jest zrozumienie i poznanie ścieżek śmierci, komórki, jak również ich regulacji, i to nie tylko z punktu widzenia *stricte* naukowego, ale i medycznego. Ta część pracy zawiera interesujący i aktualny (wiele odniesień do literatury z ostatnich kilku lat) przegląd prac pokazujący obecny stan badań. Za ważne uważam, wskazanie przez Doktorantkę roli regulacji śmierci komórki w homeostazie organizmu i to

zarówno w stanach fizjologicznych, jak i patologicznych. Jak słusznie podkreśla mgr Małgorzata Adamiec-Organisiok, brak kontroli nad regulacją pojedynczych lub mieszanych rodzajów śmierci komórek może stanowić przyczynę chorób neurodegeneracyjnych, autoimmunologicznych, czy procesu nowotworzenia.

Rozprawa napisana jest poprawnym językiem. Moim obowiązkiem jako recenzentki, jest zwrócenie uwagi na drobne usterki, których nie udało się Doktorantce uniknąć. Kilka uwag i pytań może nasuwać się podczas lektury dysertacji.

- 1) Na stronie 21 (akapit drugi) Doktorantka używa zwrotu „tiele czujnikowe”-domyślam się, że Autorka zastosowała tzw. kalkę językową, niemniej jednak proszę Doktorantkę o wyjaśnienie zastosowanego terminu.
- 2) Decydując się na wierne odzwierciedlenie rysunku zamieszczonego w pracy *Valko i wsp. (2007)*, cytowanej w pozycji [9] spisu literatury, zasadne wydaje się wyjaśnienie w podpisie, zamieszczonej na schemacie numeracji reakcji, czy skrótów. Ponadto, trafniejsze byłoby ujednoczenie nazw polsko- i anglojęzycznych.
- 3) Utrzymanie równowagi pomiędzy wytwarzaniem a neutralizacją wolnych rodników stanowi podstawowy warunek zachowania integralności komórek i tkanek. Szczególną pozycję w systemie obronnym przed wolnymi rodnikami zajmują enzymy. W rozdziale 1.3 Doktorantka przedstawiła wybrane związki hamujące utlenianie cząsteczek. Jakim kluczem kierowała się Autorka rozprawy, przedstawiając wybrane antyoksydanty? Czy flawonoidy występują tylko w zielonej i czarnej herbacie?

„**Część teoretyczna**” stanowi dobre wprowadzenie do części doświadczalnej rozprawy. Na początku rozdziału drugiego Autorka przedstawia **hipotezę i cele pracy** doktorskiej. Autorka w tym miejscu nie tylko prezentuje postawione cele, uzasadnia ich istotność.

Materiały i metody, obejmujące techniki biologii molekularnej, biochemii, biologii komórki przedstawione są w rozprawie należycie szczegółowo, co świadczy o biegłym wykorzystywaniu przedstawionej metodologii przez mgr Małgorzatę Adamiec-Organisiok. Kolokwializm, którego starałabym się uniknąć, dotyczy opisu analizy cyklu komórkowego. Autorka używa określenia „jodek propidyny...wnika on do martwych komórek barwiąc ich kwasy nukleinowe”. Użyty zwrot wynika zapewne z powszechnego żargonu laboratoryjnego, towarzyszącego doświadczonym naukowcom do których zaliczam Doktorantkę. Wskazane byłoby jednak doszczegółowienie mówiące o tym, że jodek propidyny (PI) wiąże się

stechiometryczne z DNA poprzez interkalację między zasadami DNA, a zastosowana RNAaza miała na celu uniknięcie zafałszowania wyników badań, gdyż PI wiąże się również z RNA. Użyty **warsztat metodyczny** był, w moim przekonaniu, optymalny dla realizacji celu pracy. Doktorantka podjęła się próby bioinformatycznej analizy danych. Na uznanie zasługuje analiza baz danych pod kątem sprawdzenia ekspresji genów, dla tych, których ekspresji nie potwierdzono reakcją RT-qPCR. Mgr Małgorzata Adamiec-Organieciok wykonała analizę w oparciu o dane zdeponowane w bazach NCBI i CBioportal, FerrDb V2. W tym miejscu chciałabym podkreślić, że szereg, opisanych przez Autorkę, badań chociażby edycja genomu metodą CRISPR/Cas9, czy obrazowanie z wykorzystaniem mikroskopii TEM i konfokalnej nie byłaby możliwa do zrealizowania, gdyby nie potrafiła Ona wykorzystać w swojej pracy wielu zaawansowanych narzędzi i metod badawczych. Ciekawe spostrzeżenie Doktorantki dotyczy odmiennej wrażliwości i odpowiedzi badanych linii komórkowych na indukcję ferroptozy. Mgr Małgorzata Adamiec-Organieciok potwierdziła, że komórki linii keratynocytów i ostrej białaczki są odporne na indukcję śmierci, natomiast komórki linii czerniaka 1206Lu cechuje wrażliwość. Docenić należy również fakt, podjęcia przez Doktorantkę badań pozwalających na zbadanie szlaku wzajemnej wymiany sygnałów pomiędzy komórkami. Autorka potwierdziła możliwość przepływu cząsteczek sygnałowych między komórkami będącymi w bezpośrednim kontakcie z induktorami, a komórkami będącymi w kontakcie pośrednim. Jest to ważne, gdyż regulacja „przełączania” typów śmierci **stwarza potencjalną możliwość w zastosowaniu klinicznym**, jako terapia adiuwantowa, a także terapia celowana.

Dobrze napisana 10-stronicowa **Dyskusja**, zawiera nie tylko omówienie własnych wyników i ich konfrontację z danymi piśmiennictwa, ale także analizę uzyskanych danych własnych i literaturowych prowadzącą do wyznaczenia zależności, takiej, że komórki odporne charakteryzują się zwiększoną ekspresją PROM2, GPX4 oraz FSP1, jak również brakiem ekspresji SLC7A11, co może je czynić markerami oporności. Zarówno źródła internetowe, jak i bieżące doniesienia, zostały wybrane prawidłowo.

Podsumowanie

Rozprawę oceniam wysoko, zarówno w aspekcie koncepcji, jak i pod względem metodycznym. Dysertacja **stanowi oryginalne rozwiązanie** podjętego problemu badawczego, a treść wskazuje na doskonale rozwiniętą **umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej** przez mgr Małgorzaty Adamiec-Organisiok j. Jedyna moja uwaga dotyczy części edytorskiej, w której to Doktorantka powinna wykazać się większą dbałością (w tym konsekwencji rozwijania skrótów anglojęzycznych), co jednak w żaden sposób nie umniejsza wartości merytorycznej.

Należy też podkreślić z uznaniem, że mgr Małgorzata Adamiec-Organisiok jest współautorką 8 pełnotekstowych artykułów naukowych o sumarycznej wartości współczynnika **IF=28,628**.

Wnioski

W mojej opinii oceniana rozprawa **spełnia** wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich oraz warunki określone w *art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 r. poz. 1668)*. Niniejszym składam wniosek do Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej o dopuszczenie do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora, w tym do publicznej obrony. Mając na uwadze wartość merytoryczną pracy oraz jej interdyscyplinarny charakter, uprzejmie wnoszę do Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej o rozważenie możliwości uznania przedmiotowej rozprawy doktorskiej za **wyróżniającą**.

Gratuluję Doktorantce oraz Państwu Promotorom, tak cennych rezultatów badań.

Wrocław, 08 września 2023

Dr hab. Kamila Środa-Pomianek

Kamila Środa-Pomianek