

Kielce 2023 09 11

Ocena rozprawy doktorskiej

Autor rozprawy: mgr Sylwia Ciesielska

Tytuł rozprawy: Mechanizmy regulacji stanu redoks w żywych komórkach

Promotor rozprawy: prof. dr hab. Joanna Rzeszowska

Syntetyczne przedstawienie pracy

Rozprawa doktorska mgr Sylwii Ciesielskiej przedstawiona jest w postaci polskojęzycznej monografii obejmującej 90 stron i zawierającej 10 tabel, 17 rycin i 223 pozycje bibliograficzne. Praca dotyczy mechanizmów regulujących wewnątrzkomórkowe poziomy wybranych reaktywnych form tlenu (RFT) indukowanych przez promieniowania UVA i jonizujące. Głównym jej celem było sprawdzenie, czy mechanizmy regulujące komórkowy stan oksoredukcyjny działają podobnie we wszystkich typach komórek. Mechanizmy regulujące były badane na poziomie transkrypcji (poziom mRNA) i post-transkrypcji (poziom miRNA). W tym celu zestawiono opublikowane dane dotyczące zmienności w ponad 1000 komórek poziomu mRNA genów związanych z procesami redoks. Następnie przebadano, w wybranych modelach komórkowych, zmiany ekspresji genów po działaniu promieniowania jonizującego i UVA i stworzono model matematyczny opisujący proces neutralizacji H₂O₂.

Praca składa się ze wstępu obejmującego 15 stron gdzie autorka skupia się na opisie typów i roli RFT oraz modeli procesów związanych z wewnątrzkomórkowym stresem oksydacyjnym. Materiały i metody opisano na 6 stronach, wyniki na 26 stronach z których 14 dotyczy modelu. Dyskusja wyników obejmuje 13 stron. Pozostałe strony rozprawy to spisy tabel i rycin oraz bibliografia.

Należy podkreślić, że wyniki zawarte w rozprawie zostały częściowo opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych. Publikacje te to (chronologicznie):

1. **Ciesielska S**, Bil P, Gajda K, Poterala-Hejmo A, Hudy D, Rzeszowska-Wolny J. Cell type-specific differences in redox regulation and proliferation after low UVA doses. *PLoS ONE* 14(1): e0205215, 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0205215
2. Bil P, **Ciesielska S**, Jaksik R, Rzeszowska-Wolny J. Circuits Regulating Superoxide and Nitric Oxide Production and Neutralization in Different Cell Types: Expression of Participating Genes and Changes Induced by Ionizing Radiation. *Antioxidants* 2020, 9, 701; doi:10.3390/antiox9080701
3. **Ciesielska S**, Slezak-Prochazka I, Bil P, Rzeszowska-Wolny J. Micro RNAs in Regulation of Cellular Redox Homeostasis. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 2;22(11):6022. doi: 10.3390/ijms22116022.
4. Rzeszowska-Wolny J, Hudy D, Biernacki D, **Ciesielska S**, Jaksik R. Involvement of miRNAs in cellular responses to radiation. *Int J Radiation Biol* 98: 479-488, 2022, doi: 10.1080/09553002.2022.2028923

Nieopublikowane są wyniki dotyczące modelu matematycznego. To tłumaczy, dlaczego ponad połowa objętości rozdziału „wyniki” dotyczy właśnie modelu.

Opinia o poprawności i oryginalności postawionej tezy i w jakim stopniu została ona wykazana

Tezą pracy jest założenie, że pewna część zróżnicowanej wrażliwości komórek na działanie promieniowania jonizującego i UVA wynika z różnic w procesowaniu RFT. Na podstawie analizy dostępnych wyników stwierdzono, że poziomy mRNA genów *PRDX*, *TXN* i *TXNRD1* (geny kodujące białka zaangażowane w usuwanie/inaktywację H₂O₂) są podobne w różnych typach komórek. Uzyskane przez autorkę wyniki pokazują, że komórki traktowane promieniowaniem UVA i jonizującym w różny sposób neutralizują H₂O₂, a skuteczność neutralizacji koreluje z promieniowrażliwością. Postawiona teza została zatem przez autorkę potwierdzona.

Opinia o analizie źródeł świadczącej o dostatecznej wiedzy autora w danej dyscyplinie naukowej

Wiedzę autorki oceniam jako dobrą: wstęp do rozprawy oraz wstępy i dyskusje publikacji są napisane dobrze i podparte dużą liczbą odsyłaczy (223) do pozycji literaturowych. We wstępie bardzo dobrze opisano rodzaje reaktywnych form tlenu.

Opinia o pozycji rozprawy w stosunku do stanu wiedzy reprezentowanej przez literaturę światową

Badania stanowiące treść rozprawy dotyczą bardzo aktualnego problemu mechanizmów wrażliwości komórek na czynniki zewnętrzne wywołujące stres oksydacyjny. Autorka skupiła się na mechanizmie neutralizacji H₂O₂ w komórkach traktowanych promieniowaniem jonizującym i UVA i uzyskała wyniki potwierdzające tezę, że zróżnicowane mechanizmy reakcji na stres oksydacyjny wpływają na promieniowrażliwość.

Opinia o znaczeniu uzyskanych wyników dla danej dyscypliny naukowej

Uzyskane wyniki są nowe i znamienne. Świadczy o tym opublikowanie większości z nich w dobrych czasopismach międzynarodowych z systemem *peer review*. Jedyne nieopublikowane wyniki dotyczą modelu.

Opinia o umiejętności autora do poprawnego i przekonującego przedstawienia uzyskanych przez siebie wyników

Umiejętność tę oceniam pozytywnie. Opis wyników skupia się na modelu, co można tłumaczyć opublikowaniem pozostałych wyników wchodzących w skład rozprawy. Dyskusja wyników modelu jest poprawna i pokazuje dobrą wiedzę autorki na temat mechanizmów reakcji komórek na stres oksydacyjny.

Krytyczne uwagi i pytania do kandydatki

Podczas czytania rozprawy nasunęły mi się uwagi i pytania do kandydatki, które podaję poniżej z nadzieją na ich przedyskutowanie podczas obrony pracy.

1. Wykaz stosowanych skrótów jest niekompletny. Brakuje np. definicji SOD. Wykaz powinien również zawierać oryginalne wyjaśnienia skrótów angielskojęzycznych.
2. Wstęp pracy skupia się na opisie RFT, ich pochodzeniu i znaczeniu w procesach wewnątrzkomórkowych. Brakuje jednak definicji pojęcia „reaktywna forma tlenu” oraz bardzo ważnej jej formy jaką jest „rodnik”. Co to jest rodnik? Dlaczego atom z niesparowanym elektronem jest silnie reaktywny? Na czy polega jego reaktywność?
3. Na stronie 12 pracy, autorka pisze, że promieniowanie UVA indukuje RFT i może przez to pośrednio wpływać na struktury komórkowe. Równocześnie, promieniowanie UVA nie należy do klasy promieniowania jonizującego. Jakie są zatem mechanizmy indukcji RFT przez promieniowanie UVA?
4. Na stronie 12/13 autorka pisze, że istnieją dwa rodzaje promieniowania jonizującego: niecząstkowe (promieniowanie rentgenowskie) i cząstkowe (np. elektrony). Promieniowanie rentgenowskie jest promieniowaniem fotonowym, a fotony są cząstkami elementarnymi. Natomiast elektrony można opisać funkcją falową. Czy podany przez autorkę podział jest zatem poprawny? Na czym polega zjawisko dualizmu korpuskularno-falowego?
5. Na stronie 13 autorka pisze, że ocenę dawki promieniowania uzyskuje się za pomocą dwóch jednostek: dawki ekspozycji (C/kg) i dawki pochłoniętej określającej ilość energii uwolnionej przez dowolny rodzaj promieniowania pochłoniętego przez masę materii. Czy dawka ekspozycyjna jest nadal używana w badaniach radiacyjnych i ochronie radiologicznej? Jakie są jej zalety i wady? A jak zdefiniowana jest dawka pochłonięta w systemie SI?
6. Na stronie 22 autorka opisuje hormezę radiacyjną jako zjawisko powszechnie uznane. Czy na pewno tak jest? Czy niskie dawki promieniowania zawsze zwiększają aktywność procesów naprawy uszkodzeń DNA? Co na ten temat pisze UNSCEAR w swoim ostatnim raporcie o działaniu niskich dawek (raport „2020/2021, Annex C: Biological mechanisms relevant for the inference of cancer risks from low-dose and low-dose-rate radiation”, do ściągnięcia tu: <https://www.unscear.org/unscear/en/publications/scientific-reports.html>).
7. Celem pracy było sprawdzenie czy mechanizmy regulujące komórkowy stan oksoredukcyjny działają podobnie we wszystkich typach komórek. W swoich badaniach autorka używała komórek nowotworowych. Dlaczego nowotworowych? Czy nie ciekawiej by było skupić się na komórkach prawidłowych? W tabeli 10 autorka zestawia komórki nowotworowe i prawidłowe, i wyciąga wyniki bez ich rozróżnienia. Czy możemy oczekiwać, że komórki nowotworowe i prawidłowe mają takie same mechanizmy odpowiedzi na stres oksydacyjny?

8. Na stronie 66 autorka dyskutuje „nieintuicyjne mechanizmy regulacji”. Nieintuicyjne z jakiego punktu widzenia? Komórek prawidłowych czy nowotworowych? Czy istnieje różnica w strategii tolerowania uszkodzeń DNA w komórkach prawidłowych i nowotworowych?
9. Na stronie 32 tytuł rozdziału brzmi „ekspresja enzymów uczestniczących...”. Czy autorka badała ekspresje enzymów czy genów? Na czym polega „ekspresja enzymów”? Na czym polega ekspresja genów i jak jest regulowana?
10. Na stronie 65 autorka dyskutuje mechanizmy radiooporności. W terapii nowotworów istotnym problemem są komórki hipoksyczne. Autorka ich nie wspomina. Jaki jest w nich poziom RFT? Dlaczego hipoksja tak zasadniczo wpływa na radiooporność komórek? Czy ma to coś wspólnego z RFT?

Wniosek

Wyszczególnione w poprzednim rozdziale uwagi i pytania nie wpływają na zasadniczo pozytywną ocenę pracy. Na podstawie art. 14 ust. 2 pkt 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (j.t. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789, z późn. zm.), a także § 6 ust. 1 rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2018 r. poz. 261), w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669, z późn. zm.),
wnioskuję do Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej o dopuszczenie rozprawy doktorskiej mgr Sylwii Ciesielskiej do publicznej obrony.



Prof. dr hab. Andrzej Wójcik