

Recenzja rozprawy doktorskiej
Mgr Małgorzaty Adamiec-Organiściok pt.
„Regulacja programowanej i nieprogramowanej śmierci
komórkowej w różnych liniach komórkowych”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska pt. „Regulacja programowanej i nieprogramowanej śmierci komórkowej w różnych liniach komórkowych” zawiera wyniki badań ściśle skoncentrowanych nad badaniem przebiegu ferroptozy w różnych liniach komórkowych *in vitro*, a także procesów związanych z regulacją programowanej i nieprogramowanej śmierci komórkowej. W ramach prowadzonych eksperymentów zbadano wpływ różnych czynników, które odpowiadają za indukcję lub inhibicję ścieżek śmierci w komórkach a podstawowym celem podjętych prac było scharakteryzowanie różnych ścieżek śmierci komórkowych oraz próba stworzenia systemu decyzyjnego regulacji ich indukcji/wyciszenia.

Jako Recenzent pragnę podkreślić istotność prowadzonych badań i analiz w kontekście szeroko rozumianej walki z nowotworami, czym od lat również się zajmuję choć z zupełnie innej „strony”. Ponadto przed analizą pracy dorobek naukowy Doktorantki, na który składa się nie tylko 8 artykułów opublikowanych w wysokopunktowanych czasopismach (z tzw. „listy filadelfijskiej”) ale także rozdziały w 4 monografiach, który uważam za bardzo imponujący zwłaszcza na tym etapie rozwoju naukowego.

Artykuły naukowe:

1. Skonieczna Magdalena, Hudy Dorota, Hejmo Tomasz, Bułdak RJ, Adamiec Małgorzata and Kukla Michał. The adipokine vaspin reduces apoptosis in human hepatocellular carcinoma (Hep-3B) cells, associated with lower levels of NO and superoxide anion, 2019. BMC PHARMACOLOGY & TOXICOLOGY, vol. 2019, no. 20, 70pkt MNiSW, IF. 2,103
2. Siewniak Agnieszka, Bielas Rafał, Skonieczna Magdalena, Adamiec Małgorzata, Mielanczyk Łukasz and Neugebauer Dorota. Choline based polymethacrylate matrix with pharmaceutical cations as co-delivery system for antibacterial and antiinflammatory combined therapy, 2019. JOURNAL OF MOLECULAR LIQUIDS, vol. 2019, no. 285, pp. 114-122, 100pkt MNiSW, IF. 4,561
3. Adamiec Małgorzata and Skonieczna Magdalena. UV radiation in HCT 116 cells influences intracellular H₂O₂ and glutathione levels, antioxidant expression, and

protein glutathionylation, 2019. ACTA BIOCHIMICA POLONICA, vol. 2019, no. 66, pp. 605-610, 40 pkt MNiSW, IF. 1.626

4. Skonieczna Magdalena, Adamiec Małgorzata, Hudy Dorota, Niesłoń Patrycja, Fochtman Daniel and Bil Patryk. Live cell impedance measurements and time lapse microscopy observations for ionizing radiation stimulated cellular adhesion, proliferation, and migration., 2020. CURRENT PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY, vol. 2020, no. 21, 100 pkt MNiSW, IF. 1.516
5. Magdalena Skonieczna, Małgorzata Adamiec-Organisciok, Dorota Hudy, Arkadiusz Dziedzic, Laura Los, Lubomir Skladany, Ivica Grgurevic, Tajana Filipec Kanizaj, Mieczysław Jagodzinski, Michał Kukla, Joanna Nackiewicz. Hepatocellular cancer cell lines, Hep-3B and Hep-G2 display the pleiotropic response to resveratrol and berberine, 2022, Advances in Medical Sciences, Volume 67, Issue 2, 100 pkt MNiSW, IF. 2.852
6. Śmiga-Matuszowicz, M.; Włodarczyk, J.; Skorupa, M.; Czerwińska-Główka, D.; Fołta, K.; Pastusiak, M.; Adamiec-Organisciok, M.; Skonieczna, M.; Turczyn, R.; Sobota, M.; Krukiewicz, K. Biodegradable Scaffolds for Vascular Regeneration Based on Electrospun Poly(L-Lactide-co-Glycolide)/Poly(Isosorbide Sebacate) Fibers. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 1190. <https://doi.org/10.3390/ijms24021190>,
7. Sojka, D.R., Abramowicz, A., Adamiec-Organisciok, M. et al. Heat shock protein A2 is a novel extracellular vesicle-associated protein. Sci Rep 13, 4734 (2023). 140 pkt MNiSW IF. 5.516
8. Niesyto, K, Skonieczna, M, Adamiec-Organisciok, M, Neugebauer, D. Toxicity evaluation of choline ionic liquid-based nanocarriers of pharmaceutical agents for lung treatment. J Biomed Mater Res. 2023; 1- 12. 100 pkt MNiSW, IF. 4.854

Monografie:

1. Adamiec Małgorzata, Hudy Dorota, Gendosz de Carriello Daria and Skonieczna Magdalena. Ferroptoza -indukowana promieniowaniem jonizującym, nieapoptotyczna Śmierć w komórkach prawidłowych i nowotworowych, 2019.
2. Biomedycyna i zagadnienia pokrewne., ISBN: 978-8-3659-3269-3, pp. 121-136 , rozdział w monografii, 20pkt MNiSW
3. Skonieczna Magdalena, Hudy Dorota, Bil Patryk, Adamiec Małgorzata, Stachowska Marta and Biernacki Krzysztof. Current Trends in Biomedical Engineering and Bioimages Analysis, 2019. Role of Let-7 Family miRNAs in Migration of Colorectal Cancer HCT 116 and Caco-2 Cells After Stimulation by the Adipokine Vaspin. TimeLapse Live-Cell Microscopic Observations, ISBN: 978-3-0302-9884-5, pp. 47-61, rozdział w monografii, 20pkt MNiSW

4. Łukasz Cienciąła, Luiza Ochocka, Jakub Pawlikowski, Magdalena Węgrzyn, Małgorzata Adamiec-Organisiok, Magdalena Skonieczna; „Efekt sąsiedztwa w prawidłowych keratynocytach HaCaT w układzie ko-inkubacji z nowotworami skóry w obserwacji regulowanej ścieżki śmierci – ferroptozie”; Łukasz B. Pilarz; Komórki, tkanki i narządy ludzkie – prawne problemy wykorzystania medycznego i pozamedycznego; 2023; ISBN:978-83-67104-93-7. pp. 84-98,

Szkoda, że w pracy doktorskiej Autorka nie cytuje żadnej z nich, ale do tego przejdę w analizie samej pracy, poniżej.

Przedstawiona poniżej analiza pracy doktorskiej pt. „Regulacja programowanej i nieprogramowanej śmierci komórkowej w różnych liniach komórkowej” zawiera wypunktowane i zaznaczone pytania do Doktorantki.

Podstawowym celem pracy było scharakteryzowanie różnych ścieżek śmierci komórkowych oraz próba stworzenia systemu decyzyjnego regulacji ich indukcji oraz wyciszenia. Ponadto Autorka w prowadzonych badaniach sprawdziła czy modyfikacje genetyczne, prowadzące do uzyskania нефункционального białka, wpływają na zmianę wrażliwości komórek na indukcję ferroptozy. Omawiane procesy zostały również przez Autorkę sprawdzone pod kątem wpływu na nie ko-inkubacji komórek wrażliwych z opornymi. Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka stworzyła tablice decyzyjne pomagające w określeniu wrażliwości lub oporności komórek na indukcję ferroptozy.

Autorka zwraca uwagę, iż różne linie komórkowe odpowiadają inaczej na induktor ferroptozy – erastynę. Wyniki z przeprowadzonych badań potwierdziły przypuszczenia, że linia keratynocytów i ostrej białaczki są odporne na indukcję śmierci oraz potwierdziły również wrażliwość komórek czerniaka 1205Lu. Dodając erastynę do komórek wrażliwych zaobserwowano wzrost ekspresji kluczowych genów w ścieżce śmierci, takich jak *ACSL4*, *TFRC* czy *SLC7A11*, czyniąc komórki wrażliwymi na ten rodzaj śmierci. Z kolei, wzrost ekspresji genów *FSP1*, jak i *PROM2* jest charakterystyczny dla komórek opornych. Otrzymane przez Autorkę wyniki jednoznacznie wskazują na oporność HaCaT i K562 oraz wrażliwość linii 1205Lu *in vitro*. Z kolei wyniki otrzymane dla fibroblastów oraz komórek raka płuc są do siebie zbliżone i odpowiedź zarówno jednej, jak i drugiej linii sugeruje ich ferroptozo-wrażliwość. W wykonanym w ramach prac badawczych eksperymencie zastosowanie ko-inkubacji pozwoliło zbadać szlak wzajemnej wymiany sygnałów pomiędzy komórkami, co pokazało oporność (HaCaT) jednak po inkubacji z komórkami wrażliwymi (1205Lu i 451Lu) zaczęły zachowywać się jak wrażliwe, a komórki czerniaka (1205Lu) wykazały z kolei większą oporność. Opisane zachowanie komórek wskazuje na możliwość

przepływu cząsteczek sygnałowych między komórkami będącymi w bezpośrednim kontakcie z induktorami, a komórkami będącymi w kontakcie pośrednim.

Wyniki prowadzonych badań zwracają uwagę na bardzo interesujący z klinicznego punktu widzenia wniosek, mianowicie regulacja przełączania typów śmierci daje nowe możliwości w zastosowaniach klinicznych jako terapia celowana (możliwość włączenia śmierci programowanej jak i jej wyłączenia w konkretnym rodzaju komórek) ale także, a może przede wszystkim jako terapia skojarzone co współcześnie w onkologii jest stosowane najczęściej.

Generalnie praca jest napisana w sposób czytelny i zrozumiały a kolejne jej części stanowią komplementarną całość jednocześnie dając możliwość zapoznania się z ideą prowadzonych badań jak i zrozumienia poszczególnych zagadnień nawet osobom nie związanym z tematyką, co również Recenzent uznaje za zaletę przedstawionej do recenzji rozprawy.

Ponadto, część doświadczalna została opisana w sposób bardzo dokładny. Znajdują się tutaj rozdziały i podrozdziały, opisujące różne badania, które wymagały od Autorki dużego nakładu pracy oraz współpracy z różnymi instytucjami i badaczami – nie tylko macierzystej jednostki, co dokumentuje umiejętność Autorki w organizacji warsztatu badawczego oraz współpracy w grupach interdyscyplinarnych.

Jako Recenzent pragnę wymienić kilka z tytułów rozdziałów (oznaczenie żywotności komórek, pomiary i analiza cytometryczna - na który to rozdział składa się kilka podrozdziałów, badanie zmian ekspresji genów, oznaczenie wewnątrzkomórkowego żelaza, badanie zmian ekspresji białek (metoda western blot), badanie poziomu totalnego glutationu w komórce), które mogą stanowić podstawę do odrębnych artykułów, które zapewne powstaną już po obronie doktorskiej. I to stwierdzenie w zasadzie zamyka kwestię dotyczącą cytowania własnych prac w przedstawionej dysertacji, o czym napisałem wcześniej. Z kolei inne rozdziały w części metodyczno – badawczej, m.in. mikroskopia TEM czy konfokalna utwierdzają mnie w przekonaniu, że Doktorantka posiada bardzo szeroką wiedzę z zakresu różnych fizycznych technik pomiarowych oraz potrafi przeprowadzić trafną analizę otrzymanych wyników.

Dodatkowo w rozdziale pt. Efekt sąsiedztwa Autorka opisała doświadczenie w ramach którego zbadano odpowiedź biologiczno-chemiczną w komórkach, które nie były bezpośrednio poddane działaniu erastyny. W tym przypadku induktorem ferroptozy była erastyna podana bezpośrednio do insertów (Falcon) z czerniakami. Podobnie interesujący (jeden z interesujących) rozdział dotyczy edycji genomu metodą CRISPR/Cas9.

W kwestii statystyki i analizy korelacji można się trochę spierać, gdyż współczynnik korelacji Pearsona jest szerzej interpretowany niż przedstawiono w tabeli 3 na str 58.

W ocenie Recenzenta część z wymienionych i opisanych przez Doktorantkę rozdziałów prezentujących badania własne może w zupełności stanowić podstawy do kilku wysokopunktowanych publikacji, do czego zachęcam Autorkę.

Recenzent pragnie zaznaczyć, że temat badań podjętych przez Doktorantkę uważa za bardzo wartościowy i ważny nie tylko z badawczego punktu widzenia, ale przede wszystkim klinicznego, ponieważ zagadnienie ma wymiar praktyczny w kwestii zrozumienia procesów śmierci komórkowej, co może dać istotne informacje kliniczne i przyczynić się do skutecznej walki z chorobami nowotworowymi i zapewne nie tylko.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (j.t. Dz U. z 2020 r. poz. 85, z późn. zm.), dlatego wnoszę do Rady Wydziału Inżynierii Biomedycznej Politechniki Śląskiej w Zabrzu o dopuszczenie Doktorantki pani mgr Małgorzaty Adamiec-Organisziok do dalszych etapów postępowania o nadanie tytułu doktora nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria biomedyczna

Przedstawioną do recenzji pracę doktorską mgr Małgorzaty Adamiec-Organisziok pt. „Regulacja programowanej i nieprogramowanej śmierci komórkowej w różnych liniach komórkowych” oceniam bardzo wysoko, a dorobek Doktorantki uznaję za godny podkreślenia.

Niniejszym wnoszę do Rady Wydziału Inżynierii Biomedycznej Politechniki Śląskiej w Zabrzu o wyróżnienie przedłożonej do recenzji rozprawy na stopień naukowy doktora nauk nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria biomedyczna pani mgr Małgorzaty Adamiec-Organisziok pt. „Regulacja programowanej i nieprogramowanej śmierci komórkowej w różnych liniach komórkowych

Podpisał Armand Cholewka (podpis odręczny)