

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pani mgr inż. Natalii Pieńkowskiej
pt. „Modyfikacja przedwczesnego starzenia się komórek *in vitro* i stresu
oksydacyjnego w komórkowych modelach chorób neurodegeneracyjnych przez
wybrane antyoksydanty”**

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Natalii Pieńkowskiej skupia się na niezwykle ważnej tematyce jaką jest stres oksydacyjny i jego efekty na procesy starzenia się oraz neurodegeneracji. W szczególności Doktorantka badała wpływ związków o potencjale antyoksydacyjnym na zmiany w komórkach wywołane stresem oksydacyjnym. Modelami badawczymi były fibroblasty poddane indukowanemu przedwczesnemu starzeniu się oraz komórkowe modele chorób neurodegeneracyjnych. Prace te wykonane zostały pod kierunkiem Pani promotor, prof. dr hab. Izabeli Sadowskiej-Bartosz, która ma znaczący i udokumentowany licznymi publikacjami naukowymi dorobek w zakresie tematycznym związanym z tymi badaniami. Doktorantka miała zatem zapewnione odpowiednie warunki do przeprowadzenia ciekawych i stojących na wysokim poziomie badań.

Oceniana rozprawa doktorska została przedstawiona w postaci cyklu powiązanych tematycznie artykułów, opublikowanych w czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu (*Aging*, *Acta Biochimica Polonica*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Polymers*). W trzech z tych publikacji Pani mgr inż. Natalia Pieńkowska jest pierwszą autorką, natomiast w artykule, który ukazał się w *Polymers* jej nazwisko jest na drugim miejscu na liście autorów.

Taka forma rozprawy doktorskiej spełnia wszystkie wymagania formalne, jednak w przypadku prac wieloautorskich, kluczowe dla oceny osiągnięć kandydatów do stopnia doktora są oświadczenia współautorów. Niestety forma oświadczeń przedstawionych w tej rozprawie doktorskiej powoduje, że dla celów recenzji tej rozprawy są one niemal bezużyteczne. Spowodowane jest to zastosowaniem procentowych wkładów współautorów, przypisując w ten sposób udziały w zależności od kategorii wykonanych prac (koncepcja badań, metodyka, praca laboratoryjna, interpretacja wyników, itd.). Taki opis mówi jednak bardzo niewiele o tym, co faktycznie wykonała w danej pracy Doktorantka. Co dla przykładu oznacza bowiem, że jej wkład w koncepcję badań wyniósł 20%? Czy była twórczynią pierwotnej hipotezy, czy zaprojektowała co piąte doświadczenie (nie wiadomo które), czy może brała skromny udział w projektowaniu każdego doświadczenia na etapie wyboru odczynników? Recenzent nie jest w stanie tego określić, a co za tym idzie ocenić wkładu Doktorantki w przedstawione osiągnięcia. Jak określano wymiar poszczególnych parametrów? Co oznacza dla przykładu, że wkład w prace laboratoryjne wyniósł 60%? Czy było to 60% czasu jaki spędziła Doktorantka w laboratorium przy sumowaniu czasu pracy wszystkich współautorów, czy wykonanie 60% doświadczeń (nie wiadomo jednak których konkretnie), czy jeszcze coś innego? Jeszcze bardziej niejednoznaczna jest próba określenia sumarycznego wkładu procentowego Doktorantki w każdą z prac, a także sposób obliczania tego wkładu. Z analizy przedstawionych dokumentów można wnioskować, że sumaryczny wkład obliczano jako średni wkład ze wszystkich wymienionych kategorii. Ale dlaczego każdej kategorii przypisano taką samą wagę? Czy naprawdę analiza bibliograficzna jest dokładnie tak samo ważna jak stworzenie koncepcji badań, praca laboratoryjna albo prace nad manuskryptem? A jeśli tak się uważa, to na jakiej podstawie? Podsumowując, podkreślę raz jeszcze, że taka forma oświadczeń wskazujących na wkład autorów w powstanie poszczególnych publikacji sprawia, że dla celów recenzji rozprawy doktorskiej, oświadczenia te są bezużyteczne. Dla recenzenta kluczowe jest

bowiem określenie co konkretnie zrobiła Doktorantka w trakcie prac naukowych, a nie procentowe wyliczenia (które zresztą będą zawsze bardzo subiektywne). Rozumiem, że sposób przygotowania oświadczeń nie był wyborem Doktorantki, lecz zależał od ustaleń dokonanych w ramach jednostki naukowej. Jeśli tak, to nie może to mieć negatywnego wpływu na ocenę tej konkretnej rozprawy, niemniej wskazuje na istnienie poważnego problemu, który może bardzo negatywnie odbijać się na przebiegu kolejnych postępowań doktorskich.

W związku z powyższym, oceny dokonań naukowych Pani mgr inż. Natalii Pieńkowskiej dokonałem na podstawie opisów znajdujących się w poszczególnych artykułach (na przykład dużo informacji daje opis zamieszczony w artykule w czasopiśmie *Aging*, gdzie wskazane są konkretne aktywności współautorów i tego typu opisy, może tylko nieco dokładniejsze, powinny być zamieszczane w oświadczeniach załączanych do rozprawy doktorskiej), a także biorąc pod uwagę pozycję Doktorantki na listach autorów. Na tej podstawie mogę przyjąć, że wkład Pani mgr inż. Natalii Pieńkowskiej był kluczowy w trzech artykułach (opublikowanych w *Aging*, *Acta Biochimica Polonica* oraz *International Journal of Molecular Sciences*) oraz jasno wyodrębniony, choć nie wiodący, w czwartym artykule (opublikowanym w *Polymers*). Zresztą o ile pierwsze trzy z wymienionych publikacji stanowią cykl ściśle powiązanych prac, o tyle czwarta praca dotyczy bardziej formy badanych związków w aspekcie zastosowania farmakologicznego, z tym, że można tam wyróżnić część powiązaną z tematyką rozprawy doktorskiej.

Oceniając wartość merytoryczną uzyskanych przez Panią mgr inż. Natalię Pieńkowską wyników należy wskazać, że kluczowym osiągnięciem naukowym było wykazanie, że wtórnie wytwarzane reaktywne formy tlenu **nie** są zaangażowane w przedwczesne starzenie się komórek wywołane działaniem nadtlenu wodoru. Antyoksydanty mają w tym przypadku niewielkie działanie ochronne, najprawdopodobniej związane z wpływem na mitochondria. Ponadto wykazano, że 6-OHDA, działając w niskich stężeniach, powoduje wzrost poziomu zredukowanego

glutationu. Doktorantka przedstawiła także wyniki wskazujące na to, że nadprodukcja białka tau wywołuje stres oksydacyjny w komórkach. Ma to znaczenie w patomechanizmie chorób neurodegeneracyjnych. Są to ważne naukowo wyniki, wnoszące wkład w zrozumienie zarówno roli stresu oksydacyjnego w procesach starzenia się oraz neurodegeneracji, jak również wskazujące na potencjalne zastosowania czynników antyoksydacyjnych.

W trakcie lektury rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Natalii Pieńkowskiej nasunęły mi się następujące uwagi i pytania:

1. W pracy opublikowanej w *Aging*, w Abstrakcie, w zdaniu „Hydrogen peroxide treatment did not induce secondary production of H₂O₂”, zapewne „H₂O₂” powinno być zastąpione przez „ROS”.
2. W jaki sposób były wybierane konkretne antyoksydanty do badań? Chodzi o pierwotny zestaw związków, nie o późniejszą selekcję kilku z nich (co jest opisane szczegółowo w publikacji w *Aging*).
3. W pracy opublikowanej w *Aging*, w rozdziale „Glutathione content”, jest mowa o tendencji zmniejszania poziomu GSH, mimo iż analizy statystyczne nie wykazały istotnych różnic. Uważam, że w takim przypadku nie należy mówić o tendencji, a raczej o braku wpływu (w tym przypadku nadtlenu wodoru), gdyż obserwowane różnice były najprawdopodobniej wywołane przypadkową fluktuacją mierzonych wartości.
4. Analogicznie do pytania o dobór antyoksydantów w pracy opublikowanej w *Aging*, chciałbym poprosić o informację na temat wyboru specyficznych związków badanych w doświadczeniach opisanych w artykule opublikowanym w *International Journal of Molecular Sciences*. Nie jest bowiem jasne jakie kryteria wyboru związków zostały zastosowane.

W podsumowaniu uważam, że Pani mgr inż. Natalia Pieńkowska, poprzez znaczący udział w pracach, których wyniki zostały opublikowane w cyklu czterech artykułów w międzynarodowych czasopismach naukowych, wykazała się wiedzą teoretyczną z zakresu prowadzonych przez siebie badań, a także udowodniła, że potrafi prowadzić badania naukowe i rozwiązać problem naukowy. Stwierdzam zatem, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami), w nawiązaniu do 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 ze późniejszymi zmianami). Na podstawie powyższego wnioskuję do Rady Naukowej Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie Pani mgr inż. Natalii Pieńkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, biorąc pod uwagę duże znaczenie naukowe zaprezentowanych w ocenianej pracy doktorskiej wyników badań, zwracam się o stosowne wyróżnienie tej rozprawy.



prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn