



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Eweliny Bik  
pt. " *Badania spektroskopowe wybranych mechanizmów cytotoxycznosci w komórkach  
śródbłonka naczyniowego*"**

**wykonanej pod kierunkiem promotorów:**

**prof. dr hab. Małgorzaty Barańskiej z Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego,  
prof. dr hab. Stefana Chłopickiego z Jagiellońskiego Centrum Rozwoju Leków (JCET),  
Uniwersytetu Jagiellońskiego  
oraz promotora pomocniczego**

**dr Katarzyny Majzner z Uniwersytetu Jagiellońskiego**

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Eweliny Bik pt. " *Badania spektroskopowe wybranych mechanizmów cytotoxycznosci w komórkach śródbłonka naczyniowego*" została wykonana w Zespole Obrazowania Ramanowskiego (ZOR), w Zakładzie Chemii Fizycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Małgorzaty Barańskiej oraz dr Katarzyny Majzner oraz w Jagiellońskim Centrum Rozwoju Leków (JCET) pod kierunkiem prof. dr hab. Stefana Chłopickiego.

Badania stanowiące podstawę rozprawy doskonale wpisują się w tematykę światowej klasy prac badawczych realizowanych w ZOR i JCET ukierunkowanych na biologiczne oraz medyczne zastosowania technik spektroskopowych ze szczególnym uwzględnieniem obrazowania i spektroskopii Ramana.

Głównym celem przeprowadzonych badań było opracowanie metodologii RS-HCP (ang. Raman spectroscopy – based high content profiling) obejmującej zdefiniowanie markerów spektroskopowych umożliwiających szybką identyfikację mechanizmów cytotoxycznosci m.in. różnych leków.

Badania eksperymentalne zostały przeprowadzone dla komórek śródbłonka naczyniowego pełniącego w organizmie człowieka kluczową rolę w utrzymaniu prawidłowych parametrów krwi oraz dostępności substancji znajdujących się w krwiobiegu dla tkanek.

Przed przystąpieniem do badania mechanizmów cytotoxycznosci w wybranych układach eksperymentalnych Doktorantka przeprowadziła analizę wpływu procesu utrwalania komórek śródbłonka na generowaną odpowiedź spektroskopową. Ze względu na konieczność prowadzenia badań spektroskopowych na odpowiednio dużej populacji komórek komórki utrwalone są obiektami łatwiejszymi w analizie i podjęcie przez Doktorantkę badań tego zagadnienia należy uznać za niezwykle cenne. Ostatecznie wyniki dla komórek żywych śródbłonka zostały porównane z wynikami otrzymanymi dla komórek utrwalonych glutaraldehydem dla dwóch linii lasera 488 i 532 nm [P1]. Pomiar z zastosowaniem spektroskopii i obrazowania ramanowskiego potwierdziły, że utrwalanie generuje różnice w rejestrowanych widmach Ramana, a najistotniejsze zmiany zostały zarejestrowane dla pasm charakterystycznych dla cytochromu (spadek intensywności pasm), pasm potwierdzających sieciowanie białek z GA oraz pasm lipidów (wzrost intensywności pasm).

Analiza mechanizmów cytotoxycznosci została przeprowadzona zaś dla 3 wariantów eksperymentu z komórkami śródbłonka ludzkiego. Wykonano pomiary dla:

- warunków generacji stresu oksydacyjnego powodowanego manadionem, który może wywoływać także stan zapalny [P2],
- warunków generacji stresu siateczki śródplazmatycznej powodowanego tunikamycyną [P3],
- stanu fosfolipidozy powodowanej suplementacją lekami z grupy CADs [P4] i [P5].

Badania dotyczące cytotoxycznosci pozwoliły Doktorantce na wyciągnięcie następujących wniosków:

ul. Wróblewskiego 15, 93-590 Łódź, **budynek C2**  
tel. 42 631 31 88; 42 631 28 79, fax: 42 631 30 87  
e-mail: w3i34@adm.p.lodz.pl; [www.p.lodz.pl](http://www.p.lodz.pl), [www.mitr.p.lodz.pl](http://www.mitr.p.lodz.pl)  
**Adres do korespondencji**  
ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



- głównym markerem stresu oksydacyjnego jest spadek intensywności pasm pochodzących od zredukowanej formy cytochromu oraz wzrost intensywności pasm lipidów
- stres siateczki śródplazmatycznej jest powiązany ze wzrostem intensywności pasm typowych dla białek i kwasów nukleinowych oraz spadkiem intensywności pasm charakterystycznych dla lipidów
- fosfolipidoza wywołana lekami z grupy CADs skutkuje zaś akumulacją lipidów bogatych w kwasy tłuszczowe, estry cholesterolu oraz fosfolipidy.

Układ formalny pracy nie budzi żadnych zastrzeżeń, rozprawa zawiera wszystkie elementy niezbędne do zapoznania się, tak recenzenta jaki i innych zainteresowanych podjętą tematyką naukowców, ze spektroskopową charakterystyką komórek śródbłonna. Układ pracy jest przejrzysty. Rozprawa składa się z 10 rozdziałów obejmujących tak przegląd literaturowy, jak i opis zastosowanych technik analitycznych, cel pracy, część eksperymentalną, podsumowanie i wnioski; integralną częścią pracy są również publikacje stanowiące podstawę rozprawy, dorobek naukowy Doktorantki, bibliografia.

Tematyka rozprawy doktorskiej należy do najbardziej aktualnych podejmowanych obecnie w kontekście możliwości stosowania technik obrazowania spektroskopowego, w tym obrazowania Ramana w diagnostyce zmian chorobowych w modelach zwierzęcych czy też diagnostyce chorób człowieka. Ważkość podjętej tematyki uzasadnia kluczowa rola śródbłonna w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu człowieka.

Na uznanie zasługuje także fakt, iż w trakcie badań eksperymentalnych Doktorantka wykazała się nie tylko znajomością technik obrazowania ramanowskiego, ale analiza spektroskopowa została uzupełniona o pomiary cytometryczne i analizę chemometryczną, tak niezbędną w analizie wielowymiarowych danych spektroskopowych.

Przedstawione w rozprawie wyniki badań należy uznać za imponujące tak pod względem ich różnorodności, jakości badań eksperymentalnych jak i ich opracowania. Przedstawione opracowania skłaniają jednak do zadania kilku pytań oraz sformułowania kilku sugestii:

1. Na str. 8 Autorka koncentruje się na opisie przepuszczalności naczyń w układzie krwionośnym. Mimo, że rozprawa ma układ streszczenia najważniejszych zagadnień i załączenia prac oryginalnych fragment ten powinien, zdaniem recenzenta, być opatrzony większą liczbą odnośników literaturowych (podano tylko jeden),
2. Podobna sugestia dotyczy rozdziału 2.3 (nie podano żadnego odnośnika literaturowego),
3. W podrozdziale 3.1.2. Doktorantka koncentruje się na Spektroskopii rezonansowego rozpraszania ramanowskiego. Proszę o skonfrontowanie Rysunku 3 oraz opisu do niego się odnoszącego,
4. Proszę o szersze uzasadnienie zastosowania w badaniach dwóch linii komórkowych HAEC i HMEC-1,
5. W pracach [P1]-[P5] analizę chemometryczną wykonano z zastosowaniem metod PCA lub HCA. Proszę o komentarz czy Doktorantka widziałaby celowość wykonania np. analizy PLSDA celem oszacowania czułości i swoistości stosowanych metod spektroskopowych w różnicowaniu komórek należących do różnych grup eksperymentalnych.
6. Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów stylistycznych, są one zauważalne np. na stronach 8, 9, 10, 15, 20, 21. Jest ich jednak niewiele na liczącą 66 stron rozprawę.

Wymienione powyżej uwagi i sugestie w żaden sposób nie umniejszają bardzo wysokiej ocenie merytorycznej tak pracy doświadczalnej wykonanej przez Doktorantkę jak i opracowania otrzymanych wyników, a potwierdzeniem tej opinii jest fakt, iż

ul. Wróblewskiego 15, 93-590 Łódź, **budynek C2**  
 tel. 42 631 31 88; 42 631 28 79, fax: 42 631 30 87  
 e-mail: w3i34@adm.p.lodz.pl; [www.p.lodz.pl](http://www.p.lodz.pl), [www.mitr.p.lodz.pl](http://www.mitr.p.lodz.pl)  
 Adres do korespondencji  
 ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź



publikacje stanowiące podstawę rozprawy ukazały się w międzynarodowych czasopismach o bardzo wysokim współczynniku oddziaływania (IF) i liczbie punktów MEiN.

Dorobek Doktorantki obejmuje łącznie 9 publikacji i 1 rozdział w książce. W 5 publikacjach bezpośrednio związanych z tematem rozprawy Pani mgr Ewelina Bik jest pierwszym autorem. Doktorantka prezentowała wyniki badań również w trakcie konferencji, dokumentując 21 takich aktywności, w tym 19 w ramach studiów doktoranckich, brała również udział w realizacji 9 projektów badawczych, w tym 6 w trakcie studiów doktoranckich. W czasie realizacji doktoratu odbyła także staż naukowy w Japonii, aktywnie uczestniczyła również w organizacji seminariów naukowych ZOR, UJ.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa Pani mgr Eweliny Bik spełnia warunki określone w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz.1789) oraz art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" i wnoszę o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a uwzględniając bardzo wysoki poziom zaprezentowanych badań, ich opracowania oraz upowszechnienie w czasopismach międzynarodowych o wysokim IF wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Eweliny Bik.

dr hab. inż. Beata Brożek-Pluska, prof. uczelni

