

Dr hab. n. farm. Małgorzata Grembecka
Katedra i Zakład Bromatologii
Wydział Farmaceutyczny
Gdański Uniwersytet Medyczny
80-416 Gdańsk
Al. Gen. J. Hallera 107

Gdańsk, dn. 20.07.2023 r.

Recenzja

pracy doktorskiej Pani mgr Kingi Malinowskiej

pt.: „Ocena właściwości prooksydacyjnych, genotoksycznych i proapoptotycznych nanocząstek polistyrenu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej człowieka”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Biofizyki Skażeń Środowiska Instytutu Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Bożeny Bukowskiej. Promotorem pomocniczym rozprawy była dr Paulina Sicińska.

Tworzywa sztuczne można spotkać we wszystkich gałęziach życia i gospodarki. Do tej pory na świecie wyprodukowano 8,3 miliarda ton tych materiałów. Niestety ich popularność ma swoje negatywne konsekwencje. Zanieczyszczenie tworzywami sztucznymi jest obecnie jednym z największych problemów na świecie. Stwierdzono, że potrafią one ulegać degradacji do mniejszych cząstek tzw. mikroplastiku, o wielkości od 0,1 do 5 000 μm bądź nanoplastiku o średnicy < 100 nm. Szacuje się, że ludzie na całym świecie spożywają od 0,1 do 5 gramów mikroplastiku tygodniowo poprzez nieświadome jego połykanie. W rezultacie mogą one w sposób nieprzewidziany oddziaływać na żywy organizm. Niestety brakuje usystematyzowanej wiedzy na temat wpływu cząstek plastiku na organizm człowieka czy też ustalenia dopuszczalnych dawek.

Z tego też względu uważam, że tematyka pracy doktorskiej Pani mgr K. Malinowskiej została trafnie dobrana i ważna jest nie tylko z naukowego, ale również praktycznego punktu widzenia.

Podstawą pracy doktorskiej jest cykl spójnych tematycznie czterech prac naukowych opublikowanych w latach 2020-2023 w recenzowanych czasopismach anglojęzycznych o wysokiej randze (*Environmental Pollution*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Nanotoxicology*, *Chemosphere*), o sumarycznym wskaźniku IF wynoszącym 29,073 (punktacja MEiN: 520). Na uznanie zasługuje fakt, że wszystkie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej znajdują się na liście Journal Citation Reports. Ponadto, zamieszczone w dysertacji oświadczenia współautorów wskazują, że udział Autorki w realizacji wszystkich prac był wiodący (o czym świadczy również pierwsza pozycja na liście autorów).

Na uwagę zasługuje fakt, że część badań wchodzących w skład rozprawy doktorskiej realizowana była w ramach dwuletniego grantu Preludium 20 nr 2021/41/N/NZ7/02049 (kod projektu: B2211000001190100) przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki. Projekt zatytułowany był „Nanocząstki polistyrenowe i ich właściwości epigenetyczne i genotoksyczne w ludzkich jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej”. Ponadto, Doktorantka na przeprowadzenie badań uzyskała zgodę Komisji do spraw bioetyki badań naukowych Uniwersytetu Łódzkiego No. 8/KBBN-UŁ/II/2019 (08/04/2019).

Cykl publikacji został poprzedzony opisem liczącym 28 stron, który zawiera m.in. streszczenia w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, cel pracy, opis materiału badawczego i zastosowanych metod, komentarz do uzyskanych wyników, podsumowanie, wnioski, piśmiennictwo oraz dorobek naukowy Doktorantki. Moim zdaniem pomocne byłoby zamieszczenie w dysertacji wykazu stosowanych skrótów jak również kopii zgody komisji do spraw bioetyki badań naukowych.

Dołączony do zestawu publikacji wstęp jest zwięzły, lecz pokazuje, że Autorka rozprawy doskonale porusza się w tematyce prowadzonych przez siebie badań. Wszystkie części pracy zostały opisane w sposób jasny i staranny. Rozprawa została napisana językiem poprawnym i zrozumiałym. Nie stwierdzono poważniejszych błędów edytorskich i redakcyjnych. W rozprawie zacytowano 49 pozycji aktualnego piśmiennictwa.

Głównym celem pracy doktorskiej było zbadanie mechanizmu działania niefunkcjonalizowanych nanocząstek polistyrenu o różnych średnicach (29, 44 i 72 nm) w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej człowieka poprzez określenie ich właściwości cytotoksycznych, prooksydacyjnych, genotoksycznych oraz proapoptotycznych. Cel badawczy został jasno i logicznie przez Doktorantkę sprecyzowany, a materiały i metody zastosowane do jego realizacji nie budzą zastrzeżeń. Co więcej, przeprowadzony zakres prac eksperymentalnych zawiera wiele istotnych elementów nowości naukowej.

Cykl otwiera praca przeglądowa opublikowana w czasopiśmie *Environmental Pollution* (2020), która podsumowuje dotychczasową wiedzę w zakresie występowania mikro- i nanocząstek polistyrenu w środowisku, ich kumulacji w tkankach i toksyczności dla organizmów. Uważam, że rozpoczęcie pracy naukowej od przeglądu systematycznego świadczy o wysokim poziomie zaciekawienia Pani mgr Malinowskiej tematem badań. W mojej ocenie jest także wyrazem naukowej rzetelności. Pozwala poznać wszystkie prace oryginalne dotyczące postawionego pytania badawczego i tym samym zdobyć dostępną wiedzę na wybrany temat. Na podstawie przeprowadzonego obszernego przeglądu literaturowego Doktorantka potwierdziła, że nanocząstki, po dostaniu się do organizmów, mogą przenikać przez barierę krew-mózg, a tym samym kumulować się w mózgu, co może powodować uszkodzenie komórek i indukować powstawanie różnych schorzeń. Jednocześnie

Doktorantka wskazała, że nie ma badań dotyczących toksycznego działania nanoplastików na ludzki układ krwionośny i jego komórki.

W pierwszej pracy doświadczalnej pt. „Oxidative properties of polystyrene nanoparticles with different diameters in human peripheral blood mononuclear cells (in vitro study)” oceniono wpływ nanocząstek polistyrenu o średnicy 29 nm, 44 nm i 72 nm na żywotność jednojądrzastych komórek krwi obwodowej oraz parametry stresu oksydacyjnego. W wyniku przeprowadzonych badań Doktorantka wykazała, że badane cząstki polistyrenu indukują powstawanie reaktywnych form tlenu, wzmagają peroksydację lipidów i utlenianie białek. Jednocześnie potwierdziła zależność pomiędzy nasileniem zmian a wielkością nanocząstek, przy czym te najsilniejsze były obserwowane w komórkach inkubowanych z najmniejszymi cząstkami. Ta publikacja jest pierwszą, która obrazuje wpływ nanocząstek polistyrenu na jednojądrzaste komórki krwi obwodowej, które w warunkach ekspozycji charakteryzują się mniejszą żywotnością.

Autorka dysertacji, w trzeciej z prac zawartych w cyklu, dokonała oceny właściwości fizykochemicznych nanocząstek polistyrenu oraz opisała mechanizm genotoksycznego działania tych cząstek o różnych średnicach w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej człowieka. Doktorantka wykazała, że uszkodzenia jednoniciowych DNA zachodzą pod wpływem ww. nanocząstek w stężeniach, które potencjalnie mogą być obecne w organizmie człowieka wskutek podwyższonego narażenia na te substancje.

Ostatnia praca doświadczalna dotyczyła określenia proapoptotycznego mechanizmu działania nanocząstek polistyrenu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej człowieka. W wyniku przeprowadzonych badań Pani K. Malinowska wykazała, że wszystkie badane nanocząstki indukowały apoptozę poprzez szlak wewnętrzny, podwyższając poziom jonów wapnia w cytozolu komórek, obniżając potencjał mitochondrialny oraz aktywując kaspazę 9 i kaspazę 3. Najmniejsze nanocząstki polistyrenu aktywowały również kaspazę 8, co wskazuje na możliwość zaangażowania szlaku zewnętrznego przez te badane substancje.

Uwzględniając fakt, że przedstawione wyniki zostały już opublikowane, co wiązało się z koniecznością uzyskania pozytywnych opinii recenzentów, chciałabym jedynie dopytać o doprecyzowanie i wyjaśnienie pewnych kwestii. Jednocześnie chciałabym zaznaczyć, że poruszone poniżej aspekty w żaden sposób nie podważają wysokiej wartości merytorycznej rozprawy i mojej bardzo pozytywnej oceny.

Jedną z kwestii, która wymagałaby ujednoczenia w pracy, to rozmiar mikrocząstek plastiku, który według World Health Organization, European Food Safety Agency oraz wielu źródeł literaturowych jest określany w granicach od 0,1 to 5,000 μm . Ponadto po lekturze dysertacji nasunęły mi się następujące pytania:

- Dlaczego do badań wybrano te konkretne cząstki polistyrenu o średnicach 29, 44 i 72 nm?
- Czy próbowano zastosować inne, poza wykorzystanymi w pracach, wielowariancyjne techniki chemometryczne, takie jak analiza czynnikowa bądź analiza głównych składowych, do interpretacji uzyskanych danych?
- Jak zabezpieczano próbki w czasie badań przez zanieczyszczeniem cząstkami polistyrenu ze środowiska?

Przygotowując opinię o rozprawie nie można również nie spojrzeć na całokształt dokonań naukowych Doktorantki. Jest ona współautorem 5 prac, o łącznym współczynniku oddziaływania (Impact Factor), uwzględniając również publikacje wchodzące w skład cyklu doktorskiego, wynoszącym 33,629 (680 punktów MEiN). Dodatkowo jest autorką/współautorką dwóch rozdziałów w monografiach. Ponadto, należy podkreślić aktywność Doktorantki na niwie konferencyjnej, jak również popularyzującej naukę. Pani Kinga Malinowska była autorką/współautorką 8 doniesień plakatowych, wygłosiła dwie prelekcje oraz udzielała się w ramach czterech warsztatów.

Podsumowując, Doktorantka stanęła przed poważnym wyzwaniem badawczym, któremu w pełni sprostała. Oceniając zakres merytoryczny dysertacji oraz wartość uzyskanych wyników mogę jednoznacznie sklasyfikować ją na poziomie bardzo dobrym. Rozwiązanie zadań badawczych wymagało od Doktorantki dużego zaangażowania, biegłości analitycznej, determinacji, a także dociekliwości przy interpretacji danych pomiarowych. Na szczególną uwagę zasługuje ostrożne i pełnego krytycyzmu naukowego rozumowanie, uwieńczone poprawnym, z dużą dozą samokrytycyzmu naukowego, wnioskowaniem.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Kingi Malinowskiej pt. **„Ocena właściwości prooksydacyjnych, genotoksycznych i proapoptotycznych nanocząstek polistyrenu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej człowieka”** w pełni spełnia wymagania ustawowe stawiane pracom doktorskim w świetle art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie Wyższym i Nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.). **Wobec tego mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Komisji ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Kingi Malinowskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.**

Rozprawa doktorska Pani mgr Kingi Malinowskiej zawiera elementy nowości naukowej, wyróżnia się jakością badań oraz jest bardzo dobrze zaplanowanym oryginalnym zagadnieniem naukowym. Wskazuje na wszechstronną wiedzę teoretyczną Doktorantki w reprezentowanej dyscyplinie naukowej, umiejętność prowadzenia prac badawczych oraz ich właściwą interpretację. Dodatkowo, Kandydatka posiada bardzo dobry dorobek naukowy,

gdyż legitymuje się łącznym współczynnikiem oddziaływania IF wynoszącym 33,629. Ponadto, Autorka rozprawy doktorskiej jest pierwszym autorem wszystkich prac wchodzących w jej skład. Biorąc pod uwagę wyżej wymieniony szereg czynników pozytywnie wyróżniających tę dysertację, rangę podjętej tematyki, elementy nowości naukowej, aktywność i kompetencje Doktorantki oraz znaczenie wyników dla rozwoju nauki **składam wnioski o wyróżnienie rozprawy.**

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Bromatologii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Małgorzata Grembecka
dr hab. i farm. Małgorzata Grembecka