

Imię i nazwisko kandydata: mgr Patrycja Ziętara-Krzyk

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Droga do długowieczności –Efekty oddziaływania resweratrolu i nanodiamentów na aktywność sirtuin u *Acheta domesticus*”.

„The way to longevity- effects of resveratrol and nanodiamonds on sirtuin activity in *Acheta domesticus*”.

Promotor: prof. dr hab. Maria Augustyniak

Recenzent: prof. dr hab. Maria Niklińska

1. Tematyka rozprawy

Praca doktorska mgr Patrycji Ziętary-Krzyk dotyczy problemu starzenia się organizmów i wpływu resweratrolu oraz nanocząstek diamentu na długość życia świerszcza domowego *Acheta domesticus*. Organizmy te od lat hodowane w zespole badawczym prof. dr hab. Marii Augustyniak są z powodzeniem stosowane w różnorodnych badaniach biologicznych i ekotoksykologicznych. Interesujący problem starzenia się organizmów z różnych poziomów troficznych zajmuje obecnie wiele miejsca w badaniach i dyskusjach naukowych. Okazuje się jednak, że stosunkowo niewiele wiadomo o mechanizmach procesu starzenia się owadów. Prezentowana i oceniana praca wpisuje się w ten nurt badawczy, choć świerszcz domowy jako model badawczy nie ma aktualnie bezpośredniego zastosowania aplikacyjnego.

W badaniach, będących podstawą rozprawy Doktorantki sprawdzano:

1. aktywność sirtuin u hodowanych w warunkach laboratoryjnych dwóch linii świerszczy domowych, selekcionowanych na długowieczność (linia D) i świerszczy dzikich (H)
2. odpowiedź organizmów selekcionowanych i dzikich po podaniu im resweratrolu i nanocząstek diamentu w różnych konfiguracjach i różnym czasie, jako czynników modulujących aktywność sirtuin
3. wpływ czynników modulujących na wybrane parametry fizjologiczne i komórkowe *Acheta domesticus*

2. Wiedza kandydatki

Obszerne przeglądowy artykuł „*Why is longevity still a scientific mystery? Sirtuin –Past, Present and Future*” (2023) wchodzący w skład rozprawy wskazuje dobitnie na wnikliwe rozpoznanie roli sirtuin w regulacji procesów starzenia różnych organizmów oraz związków bioaktywnych regulujących aktywność tych białek enzymatycznych. Przygotowanie tego artykułu na wczesnym etapie studiów doktoranckich dało Doktorantce podstawę do wyboru

obiekty badań, sensownego określenia celów i hipotez planowanych badań dotyczących nierozpoznanych mechanizmów starzenia u świerszczy domowych, szczególnie w kontekście różnic między badanymi liniami *Acheta domesticus*.

Kolejne prace naukowe, po dokonanych dogłębnym przeglądzie istniejącej wiedzy, wchodzące w skład rozprawy wskazują na poprawne zaplanowanie i konsekwencję w przeprowadzeniu badań. Świadczą też o dobrej znajomości teoretycznej i praktycznej różnorodnych metod badawczych: biochemicznych, molekularnych i statystycznych zastosowanych do oceny wpływu cząstek egzogennych na aktywność białek regulujących procesy starzenia. Manuskrypty oparte o wyniki szeregu doświadczeń, w tym praca „*Effects of resveratrol and nanodiamonds on sirtuin activity, oxidative stress and DNA damage in Acheta domesticus*”, w którym Doktorantka jest autorem korespondencyjnym świadczą nie tylko o dobrym przygotowaniu Doktorantki do zaplanowanych badań ale także o wykraczającej poza tematykę badań szerokiej wiedzy biologicznej. Pani mgr Patrycja Ziętara-Krzyk dla uzyskania oceny wpływu resweratrolu i nanodiamentów na parametry biochemiczne, komórkowe i życiowe świerszczy zastosowała zoptymalizowane do badanych układów różnorodne metody analityczne i przeanalizowała ich wyniki stosując poprawnie metody statystyczne. Ogólną aktywność sirtuin mierzyła za pomocą testów kolorymetrycznych i fluorescencyjnych, zastosowała także test uszkodzenia DNA i analizę przeżycia Kaplana-Meiera.

3. Samodzielność doktorantki

Recenzowana rozprawa doktorska oparta jest na wieloautorskich opublikowanych artykułach. Trudno przy tak rozbudowanych, interdyscyplinarnych badaniach oceniać samodzielność Doktorantki. Podstawą do tej oceny są oświadczenia jej i współautorów pracy, wskazujące na dominującą rolę mgr Patrycji Ziętary-Krzyk w planowaniu badań, w wyborze nanodiamentów jako nośników resweratrolu jako czynników modulujących aktywność sirtuin, w przeprowadzeniu serii doświadczeń, odpowiednim gromadzeniu i interpretacji uzyskanych danych. Udział współautorów dotyczył głównie pomocy przy opracowaniu wyników i przygotowywaniu ostatecznych wersji publikowanych manuskryptów lub wykonania specyficznych, wykorzystanych w badaniach analiz. O samodzielności doktorantki świadczy spójność i logiczny ciąg zaproponowanych i przeprowadzonych przez Doktorantkę badań a także, konsekwentne pierwsze miejsce wśród autorów artykułów tworzących rozprawę. W trzech pozostałych pracach rolę autora korespondencyjnego pełniła promotor rozprawy prof. dr hab. Maria Augustyniak.

Mgr Patrycja Ziętara-Krzyk ma aktualnie w dorobku 8 prac naukowych z IH=5, łącznie cytowanych 70 (75) razy, należy zauważyć, że dwie prace wchodzące w skład rozprawy ukazały się dopiero w 2026 roku. Dane nauko-metryczne nie stanowią przedmiotu oceny, są jednak prognozą dalszego rozwoju naukowego Pani mgr Patrycji Ziętary-Krzyk i aktualności podejmowanych przez nią tematów badawczych.

Z informacji dodatkowych dołączonych do pracy dowiadujemy się także o udziale w kilkunastu krajowych lub międzynarodowych konferencjach, niestety nie o wszystkich wiadomo w jakiej formie Pani Patrycja Ziętara-Krzyk w nich uczestniczyła.

O dobrym przygotowaniu do pracy naukowej świadczy przygotowanie projektu PRELUDIUM i otrzymanie finansowania na zaproponowane w nim badania.

4. Oryginalność rozprawy

Rozprawa doktorska mgr Patrycji Ziętary-Krzyk zawiera oryginalne, starannie opracowane i przedstawione wyniki a krytyczne uwagi w merytorycznych, obszernych dyskusjach i podsumowaniach opublikowanych artykułów wskazują na konieczność wielokierunkowych interdyscyplinarnych badań w tym wpływu nanocząsteczek na organizmy żywe.

Wszystkie przedstawione mi do oceny teksty stanowiące rdzeń rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w czasopismach naukowych posiadających tzw. współczynnik wpływu (Impact Factor – IF). Trzy publikacje w International Journal of Molecular Science zaliczanego w naukach biologicznych do pierwszego kwartyła (Q1), z IF=4,9. Czwarta praca, w której autorem korespondencyjnym jest Doktorantka opublikowana została w Biochemical and Biophysical Research Communication, w czasopiśmie z trzeciego kwartyła (Q3) o IF=2,2. Łączna liczba punktów ministerialnych dla opublikowanych prac wynosi 520, zaś łączny IF wynosi 16,9.

Oryginalności rozprawy dowodzi:

1. Wykazanie ograniczonego i zależnego od kontekstu wpływu nanomateriałów i związków bioaktywnych na szlaki molekularne związane ze starzeniem się świerszczy domowych. Resweratrol (RV) i nanocząsteczki diamentu (NDs) wywoływały przejściowe reakcje, silnie zależne od wieku i szczepu owadów, bez wyraźnego lub trwałego wpływu na długość życia ani stabilnej modulacji aktywności sirtuin. Ekspozycja na RV+NDs nie spowodowała spójnego wydłużenia długości życia ani utrzymującego się stresu oksydacyjnego.

2. Wskazanie markerów odpowiedzi na uszkodzenia DNA jako najbardziej czułych wskaźników ekspozycji na resweratrol i nanocząsteczki diamentu. Reakcje molekularne zależały silnie od tła genetycznego i wieku owadów, co odzwierciedlały istotne statystycznie różnice w przeżywalności między szczepami H i D ($p < 0,001$). Trwały wzrost całkowitej aktywności sirtuin stwierdzono wyłącznie w szczepie wyselekcjonowanym pod kątem długowieczności, ale nie wykryto stabilnej aktywacji SIRT1 ani SIRT6. Podawanie świerszczom w pokarmie RV+NDs indukowało zależne od kontekstu, adaptacyjne reakcje molekularne. Szczep długowieczny wykazywał stabilność w zakresie reakcji sirtuin i przeżywalności, co wskazuje, że mechanizmy regulujące długowieczność są genetycznie zachowane i odporne na modulację zewnętrzną.

3. Wykazanie wzrostu aktywności białka SIRT6 z wiekiem owadów, niezależnie od linii i stosowanych substancji modulujących, przy stabilności aktywności sirtuin SIRT1, niezależnej od wieku świerszczy.

5. Pytania /komentarze

Recenzowanie rozprawy doktorskiej będącej cyklem powiązanych tematycznie, opublikowanych już artykułów naukowych jest stosunkowo proste i przyjemne, ponieważ zasadnicze rozdziały pracy były wcześniej recenzowane w trakcie procesu redakcyjnego. Trudno raczej mieć wątpliwości czy zastrzeżenia do wartości merytorycznej dopracowanych po recenzjach, opublikowanych wyników.

Niemniej, podczas lektury rozprawy nasunęły mi się następujące pytania:

1. Jakiej płci były osobniki w obu badanych liniach ? Czy proporcje we wszystkich badanych grupach i w trakcie trwania doświadczeń były zachowane?
2. Jaka liczba osobników stanowiła każdą „wyjściową próbę doświadczalną”? Na stronie 35 rozprawy czytamy: „ Liczebność osobników w poszczególnych grupach była utrzymywana na poziomie umożliwiającym przeprowadzenie analiz statystycznych, natomiast w analizach biochemicznych stosowano powtórzenia biologiczne w liczbie $n=5$.”
3. Czy wiadomo, czy osobniki badane w doświadczeniach w liniach hodowanych na długowieczność różniły się (różnią się) masą od osobników dzikich? Czy mogło to mieć wpływ na wyniki, skoro zastosowane czynniki modulujące (RV, NDs) miały określone stężenie w masie pokarmu, czy mogłoby to przekładać się na różne oddziaływanie czynników modulujących w obu badanych szczepach?

4. Co oznacza stwierdzenie, że owady były regularnie karmione? Czy możliwe jest obserwowanie zachowań, związanych z pobieraniem pokarmu przez świerszcze? Czy osobniki obu linii zachowują się podobnie, jedzą podobne ilości pokarmu? Znane są przykłady unikania pokarmów np. przez pająki lub dżdżownice w badaniach ekotoksykologicznych. Czy mogły istnieć różnice w ilości pobieranego pokarmu w badanych grupach?

6. Inne uwagi dotyczące treści lub formy rozprawy

W mojej opinii, pod względem językowym i redakcyjnym oraz sposobu prezentacji przedstawiona mi do recenzji praca nie budzi zastrzeżeń, jest poprawna językowo i zawiera merytorycznie uzasadnione i spójne cytaty. Podkreślę wyjątkowo staranne graficzne opracowanie manuskryptu zawierającego liczne, bardzo przejrzyste, w tym także samodzielnie przygotowane przez autorkę ryciny, ułatwiające zapoznanie się ze schematem prowadzonych doświadczeń. Załączone streszczenia pracy w języku polskim i angielskim przedstawiają wyniki uzyskane we wszystkich eksperymentach a także szczegółową charakterystykę sirtuin oraz ich aktywatorów i inhibitorów. Doktorantka w konkluzjach i szerokiej dyskusji celnie i krytycznie odniosła się do uzyskanych wyników w kontekście stawianych hipotez dowodząc dojrzałości naukowej i poprawnego stosowania języka naukowego. Zasadniczo nie znalazłam błędów edytorskich ani stylistycznych w całej ocenianej pracy, trudno bowiem uznać za takie kilka brakujących znaków interpunkcyjnych.

7. Ocena końcowa

Podjęcie przez Doktorantkę tematyki procesów starzenia się organizmów, roli sirtuin i związków modulujących aktywność tych białek, przeprowadzenie kilku bardzo rozbudowanych i spójnych tematycznie doświadczeń z zastosowaniem różnorodnych metod analitycznych i odpowiednich metod statystycznych oraz krytyczne ich opracowanie dowodzi dojrzałości naukowej doktorantki.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Patrycji Ziętary-Krzyk stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, zawiera wiarygodne, istotne dane na temat oddziaływania resweratrolu, nanocząsteczek diamentu i ich interakcji na aktywność sirtuin i przeżywalność *Acheta domesticus*.

Stwierdzam także, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony

Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie mgr do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

8. Wnioskuje o wyróżnienie rozprawy doktorskiej

Podstawą mojego wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Patrycji Ziętary-Krzyk jest wysoka wartość merytoryczna rozprawy opartej na czterech artykułach opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych, z zasadniczym potwierdzonym udziałem doktorantki w procesie prowadzenia badań, interpretacji i przedstawieniu wyników oraz w przygotowaniu manuskryptów. W mojej ocenie uwzględniam także dogłębną analizę bardzo dobrze przedstawionych wyników oraz bezbłędną edytorską stronę rozprawy. Kolejnym argumentem dla mojej propozycji jest docenienie przez ekspertów Narodowego Centrum Nauki zaplanowanych przez Autorkę badań poprzez finansowanie projektu PRELUDIUM. Wnoszę do Rady Wydziału Biologii i Ochrony o wyróżnienie rozprawy w trybie przyjętym w Uniwersytecie Śląskim w Katowicach.

Lipiec/sierpień 2026

