



RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Patrycji Ziętary-Krzyk

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

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w Instytucie Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach pod kierunkiem prof. dr hab. Marii Augustyniak. Rozprawa ma formę spójnego tematycznie cyklu publikacji, uzupełnionego obszernym wprowadzeniem, syntetycznym omówieniem wyników, dyskusją, wnioskami oraz oświadczeniami współautorów.

1. Charakterystyka rozprawy i dorobku publikacyjnego

Rozprawa liczy 189 stron i obejmuje cztery powiązane tematycznie artykuły naukowe. Pierwszy z nich ma charakter przeglądowy, natomiast trzy kolejne są pracami oryginalnymi. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszą autorką, a każda praca została przygotowana przez trzysobowy zespół autorski. Taki układ autorstwa, w połączeniu z deklaracjami wkładu, wskazuje na centralną rolę mgr Patrycji Ziętary-Krzyk w powstaniu cyklu.

Łączny Impact Factor czterech publikacji stanowiących rozprawę wynosi 16,9, natomiast łączna liczba punktów według wartości podanych w rozprawie wynosi 520. Jest to dorobek publikacyjny wyraźnie przekraczający minimum oczekiwane od rozprawy doktorskiej. W części „Informacje dodatkowe” Autorka wykazała ponadto cztery inne publikacje, co oznacza, że jej dotychczasowy dorobek obejmuje łącznie osiem artykułów naukowych. Cztery prace niewchodzące do cyklu mają łączny IF 23,4, a zatem sumaryczny IF wszystkich ośmiu wykazanych publikacji wynosi 40,3.

Warto podkreślić, że rozprawa nie zawiera procentowego określenia udziału Doktorantki w poszczególnych publikacjach. Udział został opisany jakościowo zgodnie z taksonomią CRediT. Z deklaracji wynika, że mgr Patrycja Ziętara-Krzyk uczestniczyła w tworzeniu koncepcji badań, opracowaniu metodologii, realizacji eksperymentów, analizie formalnej i statystycznej, zarządzaniu i opracowaniu danych, wizualizacji, przygotowaniu pierwszych wersji manuskryptów oraz ich redakcji. W pracach oryginalnych pełniła również funkcję osoby odpowiedzialnej za oprogramowanie i administrację projektu, a w jednej z publikacji wskazano także pozyskanie finansowania. Szczególnie istotne jest, że w dwóch pracach oryginalnych samodzielnie przygotowała pierwszą wersję manuskryptu. Deklarowany zakres zadań jednoznacznie potwierdza jej wiodący i samodzielny udział.

Dodatkowym potwierdzeniem samodzielności naukowej jest kierowanie przez Doktorantkę projektem NCN PRELUDIUM 22 nr 2023/49/N/NZ7/01058, którego tematyka jest bezpośrednio związana z rozprawą.

2. Ocena problematyki, celu i hipotez badawczych

Tematyka rozprawy jest aktualna i interdyscyplinarna. Łączy biologię starzenia, enzymologię, toksykologię nanomateriałów oraz biologię owadów. Sirtuiny należą do najintensywniej badanych regulatorów homeostazy komórkowej i procesów związanych ze starzeniem, natomiast wykorzystanie *Acheta domesticus* jako modelu do badania ich aktywności jest nadal stosunkowo słabo rozwinięte. Za wartościowe uznaję włączenie do projektu dwóch linii świerszcza domowego różniących się historią selekcji oraz zestawienie działania resweratrolu i nanodiamentów, stosowanych oddzielnie i łącznie.

Cel pracy został sformułowany jasno i rozpisany na logiczne etapy: analizę stanu wiedzy, badania wstępne, ocenę działania pojedynczych czynników oraz analizę ich łącznego oddziaływania. Tak zaplanowany układ umożliwił przejście od pytań ogólnych do bardziej szczegółowej oceny aktywności sirtuin, stresu oksydacyjnego, uszkodzeń DNA i przeżywalności.

Hipotezy badawcze są uzasadnione literaturowo, choć część z nich ma charakter szeroki i zakłada możliwość wykazania kierunkowego efektu pro-długowiecznościowego. Uzyskane wyniki nie potwierdziły jednoznacznie trwałego wydłużenia życia, co nie obniża wartości pracy. Przeciwnie, pokazuje, że oddziaływanie resweratrolu i nanodiamentów jest zależne od linii, wieku i kontekstu biologicznego, a wyniki negatywne lub niejednoznaczne zostały przedstawione rzetelnie.

3. Ocena metodologii i wyników

Zakres analiz jest szeroki i obejmuje przeżywalność, całkowitą aktywność sirtuin, aktywność SIRT1 i SIRT6, aktywność enzymów antyoksydacyjnych, peroksydację lipidów oraz markery uszkodzeń DNA. Zastosowanie wielu poziomów oceny pozwoliło na kompleksowe opisanie reakcji organizmu. Mocną stroną rozprawy jest porównywanie wyników w kolejnych etapach rozwoju i w dwóch liniach o odmiennej historii życia.

Za najważniejszy rezultat uznaję wykazanie, że linia selekcyjowana pod kątem długowieczności charakteryzowała się odmiennym profilem aktywności sirtuin i odmienną odpowiedzią na badane czynniki. Rezultaty wskazują, że aktywność sirtuin może być elementem fenotypu związanego z długowiecznością, jednak nie stanowi prostego i uniwersalnego wskaźnika wydłużenia życia. Resweratrol i nanodiamenty wywoływały przede wszystkim przejściowe i zależne od kontekstu zmiany. W przypadku łącznego podawania obu czynników najbardziej wyraźny był wzrost całkowitej aktywności sirtuin w linii długowiecznej, bez trwałych zmian aktywności SIRT1 i SIRT6.

Interpretacja wyników jest na ogół ostrożna, a dyskusja dobrze osadzona w literaturze. Autorka prawidłowo unika wniosku, że samo zwiększenie aktywności sirtuin musi prowadzić do wydłużenia życia. Wskazuje także na potrzebę dalszej oceny bezpieczeństwa nanomateriałów oraz na ograniczenia wynikające z zależności efektów od wieku i tła genetycznego.

4. Uwagi krytyczne i pytania do dyskusji

Praca została przygotowana starannie i przedstawia wartościowy materiał naukowy. Poniższe uwagi mają charakter dyskusyjny i nie podważają pozytywnej oceny rozprawy:

1. W rozprawie stosowane jest określenie „kompleks RV+NDs”. Czy wykazano fizykochemicznie trwałe związanie resweratrolu z powierzchnią nanodiamentów, czy też badano jedynie jednoczesne podanie obu składników? Jakie dane potwierdzają adsorpcję, stabilność i ewentualne uwalnianie resweratrolu?
2. Na ile testy służące do oznaczania aktywności SIRT1 i SIRT6 zostały zwalidowane dla materiału pochodzącego od *Acheta domestica*? Czy można wykluczyć reakcje krzyżowe lub różnice powinowactwa substratów w porównaniu z białkami ssaczymi?
3. Dwie badane linie różniły się historią selekcji. W jakim stopniu obserwowane różnice można przypisać długowieczności, a w jakim innym utrwalonym cechom genetycznym lub fizjologicznym?
4. Autorka interpretuje przejściowy wzrost markerów uszkodzeń DNA jako możliwy sygnał aktywacji mechanizmów naprawczych. Jakie dodatkowe pomiary byłyby potrzebne, aby odróżnić aktywację naprawy DNA od rzeczywistego nasilenia uszkodzeń?
5. Czy brak trwałego efektu pro-długowiecznościowego może wynikać z zastosowanych dawek, schematu ekspozycji lub biodostępności resweratrolu? Jak Autorka zaprojektowałaby eksperyment pozwalający rozstrzygnąć tę kwestię?

Pod względem redakcyjnym rozprawa została przygotowana starannie i estetycznie. Pewne fragmenty wprowadzenia są jednak rozbudowane w stosunku do części syntetyzującej wyniki, a miejscami pojawiają się sformułowania o charakterze popularnonaukowym. Nie wpływa to jednak istotnie na czytelność ani wartość merytoryczną pracy.

5. Ocena końcowa

Rozprawa doktorska mgr Patrycji Ziętary-Krzyk stanowi spójne, oryginalne i wartościowe opracowanie naukowe. Doktorantka wykazała umiejętność formułowania problemów badawczych, planowania i realizacji eksperymentów, analizy danych, krytycznej interpretacji wyników oraz przygotowania publikacji do druku. Cykl czterech publikacji o łącznym IF 16,9, w których jest każdorazowo pierwszą autorką, stanowi silną podstawę rozprawy. Jakościowo zadeklarowany wkład obejmuje niemal wszystkie kluczowe etapy procesu badawczego i potwierdza jej wiodącą rolę.

Uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Patrycji Ziętary-Krzyk pt. „Droga do długowieczności – Efekty oddziaływania resweratrolu i nanodiamentów na aktywność sirtuin u *Acheta domestica*” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w dyscyplinie nauki biologiczne oraz wykazuje jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Tym samym rozprawa spełnia wymagania określone w art. 187 ust. 1–3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jedn. Dz.U. z 2024 r. poz. 1571, z późn. zm.).

W związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach z wnioskiem o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Patrycji Ziętary-Krzyk do publicznej obrony, stanowiącej kolejny etap postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Jednocześnie, mając na uwadze wysoki poziom naukowy rozprawy, spójność przedstawionego cyklu publikacji, istotną wartość poznawczą uzyskanych wyników, bardzo dobry dorobek publikacyjny Doktorantki oraz jej wiodący udział w realizacji badań i przygotowaniu prac naukowych, wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Patrycji Ziętary-Krzyk.

Wniosek ten uzasadniam w szczególności wysoką jakością merytoryczną rozprawy, aktualnością i interdyscyplinarnym charakterem podjętej problematyki, szerokim zakresem przeprowadzonych badań, publikacją wyników w renomowanych czasopismach naukowych oraz dojrzałością Doktorantki w zakresie planowania badań, analizy danych i krytycznej interpretacji uzyskanych rezultatów. Cykl czterech publikacji o łącznym współczynniku Impact Factor wynoszącym 16,9, w których Doktorantka jest pierwszą autorką, stanowi osiągnięcie wyraźnie ponadprzeciętne na etapie ubiegania się o stopień doktora.

Janina Katowice