



Warszawa, dn. 07.09.2023

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Edyty Janik-Karpińskiej pt. „Ocena mechanizmów cytotoksycznego i genotoksycznego działania toksyny T-2 produkowanej przez grzyby z rodzaju *Fusarium*”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Centrum Zapobiegania Zagrożeniom Biologicznym Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego w ramach programu „Inter-DOC-STARt – Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie”. Promotorem rozprawy jest dr hab. n. biol. Michał Bijak, prof. UŁ, a promotorem pomocniczym płk. dr inż. Michał Ceremuga.

Rozprawę doktorską stanowi cykl publikacji, na który składają się trzy prace oryginalne oraz jedna praca pogładowa. Trzy z tych prac zostały opublikowane w latach 2021-2023, a jedna jest obecnie recenzowana. Publikacje ukazały się w wysoko punktowanych pismach naukowych (kwartył Q1) o łącznym wysokim współczynniku oddziaływania IF ~20. We wszystkich pracach Pani mgr Edyta Janik-Karpińska jest pierwszą autorką, co świadczy o wiodącym udziale Doktorantki w prowadzonych projektach. Co istotne, badania były współfinansowane z programu „Preludium” (Narodowe Centrum Nauki), w którym Doktorantka pełniła rolę kierownika.

Dodatkowo, Kandydatka jest współautorką 11 innych publikacji oraz 11 doniesień konferencyjnych, a o ich istotnym oddziaływaniu na środowisko naukowe świadczy wysoka liczba cytowań wynosząca ok. 400. Sumaryczny dorobek Kandydatki jest imponujący i wynosi 1700 pkt MEiN, IF = 76.

Rozprawa opatrzona jest opisem, który zawiera wszystkie elementy typowe dla pracy doktorskiej, tj.: spis treści, streszczenie, wprowadzenie, cel, metodologię, wyniki i ich omówienie. Piśmiennictwo jest bogate, a jego dobór prawidłowy. Do rozprawy załączone zostały kopie publikacji stanowiących cykl oraz oświadczenia współautorów o ich udziale w przygotowaniu publikacji. Przewodni udział Doktorantki w badaniach i powstaniu publikacji stanowiących podstawę dysertacji nie budzi wątpliwości.



Wartość merytoryczna i naukowa rozprawy

Celem pracy było zbadanie dotąd słabo poznanych mechanizmów cytotoksycznego i genotoksycznego działania toksyny T-2 w warunkach *in vitro*. Mykotoksyna T-2 należy do grupy trichotecenów i jest wytwarzana m.in. przez fitopatogenne grzyby należące do rodzaju *Fusarium*. Jest to grupa grzybów powszechnie występujących na roślinach zbożowych i ich produktach, a wytwarzane przez nie trichoteceny cechuje wysoki poziom toksyczności i wysoka stabilność. Dlatego potencjalne zatrucie toksyną T-2 stanowi istotny problem dla zdrowia oraz bezpieczeństwa publicznego. Z tego powodu przedstawione do oceny badania są ważne zarówno z naukowego, jak i społecznego punktu widzenia.

Doktorantka przeprowadziła zaawansowane analizy mające na celu określenie efektu biologicznego działania toksyny T-2 na komórki wyprowadzone z prawidłowych ludzkich fibroblastów (linia Hs68). Analizowała potencjał błony mitochondrialnej oraz stopień uszkodzenia DNA mitochondrialnego i jądrowego w komórkach traktowanych toksyną T-2.

Pierwsza z załączonych prac ma charakter poglądowy (*T-2 toxin—the most toxic trichothecene mycotoxin: Metabolism, toxicity, and decontamination strategies; 2021*). W pracy tej Doktorantka przeprowadziła analizę obecnego stanu wiedzy na temat działania i skutków biologicznych ekspozycji komórek/tkanek, w tym układów immunologicznego i nerwowego, na toksynę T-2. Praca oparta jest na najnowszych danych literaturowych, a jej przygotowanie pozwoliło Doktorantce pozyskać szeroką i najnowszą wiedzę na temat badanego przedmiotu i bez wątplenia doskonale przygotowało Kandydatkę do realizacji założeń badawczych.

Trzy pozostałe manuskrypty przedstawione w ramach cyklu przedstawiają wyniki oryginalnych badań nad molekularnymi mechanizmami cytotoksycznego i genotoksycznego działania toksyny T-2. W pierwszej z prac oryginalnych (*Direct T-2 Toxicity on Human Skin—Fibroblast Hs68 Cell Line—In Vitro Study; 2022*) Doktorantka opisuje badania nad określeniem ścieżek biologicznych prowadzących do śmierci komórek Hs68, traktowanych różnymi dawkami toksyny. Otrzymane dane zostały potwierdzone z użyciem niezależnych, prawidłowo dobranych testów/technik. Doktorantka wykazała, że cytotoksyczne działanie toksyny T-2 względem komórek fibroblastów oparte jest na procesie nekrozy.



W kolejnej z prac (*Mitochondrial Damage Induced by T-2 Mycotoxin on Human Skin – Fibroblast Hs68 Cell Line*; 2023) Doktorantka przedstawiła wyniki badań nad wpływem toksyny T-2 na aktywność metaboliczną mitochondriów i zaobserwowała, że traktowane komórki Hs68 wykazują obniżony potencjał błony mitochondrialnej. Przeprowadzone analizy sugerują, że spadek ten jest spowodowany zaburzeniami w procesie fosforylacji oksydacyjnej, co skutkuje zablokowaniem syntezy ATP. Dodatkowo, Kandydatka zaobserwowała zmianę w liczbie kopii mitochondrialnego DNA w traktowanych komórkach, co wskazuje na istotny potencjał genotoksyczny toksyny T-2.

Badania nad genotoksycznością toksyny T-2 zostały poszerzone przez Kandydatkę o analizę stabilności genomu jądrowego. Doświadczenia przeprowadzone m.in. z użyciem testu kometowego potwierdziły powstawanie uszkodzeń w jądrowym DNA po ekspozycji komórek na badaną toksynę. Jednym z zaproponowanych mechanizmów, który mógłby prowadzić do zatrzymania syntezy DNA i w konsekwencji indukować nekrozę w traktowanych toksyną komórkach, jest powstawanie miejsc/uszkodzeń apurynowych/apirimidynowych w sekwencji DNA. Istotne, silne powinowactwo toksyny T-2 do DNA zostało dodatkowo potwierdzone w analizie *in silico* opisanej w ostatnim z załączonych manuskryptów.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa stanowi spójny cykl prac, których ogólnym celem było prowadzenie badań ukierunkowanych na lepsze poznanie molekularnych mechanizmów działania toksyny T-2 na komórki skóry w warunkach *in vitro*. Badania zostały poprawnie zaplanowane, zrealizowane i skonfrontowane z opublikowanymi danymi uzyskanymi w innych laboratoriach. Kandydatka w badaniach posłużyła się właściwie dobranymi zaawansowanymi technikami molekularnymi, w tym testem kometowym, analizami przeżywalności i aktywności badanych komórek z użyciem testów kolorymetrycznych oraz cytometrii przepływowej. Dodatkowo, przeprowadziła analizy oddziaływania toksyny z DNA z zastosowaniem modelowania komputerowego. Analiza statystyczna uzyskanych wyników została przeprowadzona przy użyciu prawidłowo dobranych testów statystycznych. Forma i naukowa wartość otrzymanych wyników oraz ich opublikowanie świadczą, że Pani mgr Edyta Janik-Karpińska jest doskonale przygotowana do samodzielnego prowadzenia prac badawczych. Uważam, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki stanowią istotny wkład w badania nad mechanizmem działania toksyny T-2 i mają charakter nowatorski.



Poprawność redakcyjna rozprawy

Nie mam uwag co do poprawności redakcyjnej rozprawy i oceniam ją bardzo wysoko. Tekst pracy jest prawidłowo sformatowany, pozbawiony błędów, a oprawa graficzna przyjazna i czytelna.

Pytania

Pracę oceniam bardzo dobrze i jedynie uprzejmie poproszę Kandydatkę o odniesienie się do poniższych zagadnień:

1. Biorąc pod uwagę właściwości toksyny T-2 i mechanizm jej działania na drodze nekrozy, czy można rozważyć jej zastosowanie w leczeniu guzów złośliwych.
2. Czy toksyna T-2 jest substratem dla białek transportowych z rodziny ABC, do których należą pompy lekowe, tj. P-gp? Czy, np. komórka oporna na klasyczne chemioterapeutyki może być wrażliwa na toksynę T-2 i nie nabywać na nią tolerancji?

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska Pani mgr Edyty Janik-Karpińskiej pt. „Ocena mechanizmów cytotoksycznego i genotoksycznego działania toksyny T-2 produkowanej przez grzyby z rodzaju *Fusarium*” w pełni spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. Zm.).

Zwracam się do Wysokiej Komisji ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Edyty Janik-Karpińskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Wniosek o wyróżnienie

Badania przedstawione w rozprawie wpisują się w szerokie zainteresowania badawcze realizowane w kierowanym przez Promotora w Centrum Zapobiegania Zagrożeniom Biologicznym Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Doktorantka przedstawiła spójną sekwencję doświadczeń, które opisują dotąd słabo zbadane właściwości genotoksyczne toksyny T-2 oraz mechanizm jej działania na drodze nekrozy. Uzyskane wyniki są nowatorskie i stanowią istotny wkład w badania nad



mechanizmem molekularnym działania toksyny T-2 na komórki skóry, czego potwierdzeniem jest opublikowanie prac wchodzących w skład cyklu w pismach z grupy Q1. Dodatkowo, całociowy dorobek naukowy Doktorantki oraz uzyskany grant Narodowego Centrum Nauki świadczą o ponadprzeciętnym zaangażowaniu Doktorantki w realizację zadań w ramach prowadzonych prac badawczych na Uczelni.

Wnioskuje do Komisji ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



Signed by /
Podpisano przez:

Damian Kamil
Gaweł

Date / Data:
2023-09-08 09:47

Kierownik
Zakładu Biologii Komórki i Immunologii
Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego

dr hab. n. med. Damian Gaweł, prof. CMKP