

Warszawa, 16.08.2023 r.

dr hab. Katarzyna Dziendzikowska
Zakład Fizjologii Żywienia
Katedra Dietetyki
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka
SGGW w Warszawie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Patrycji Paciorek pt. "Rola miRNA w toksyczności nanocząstek srebra" wykonanej w Katedrze Biologii Nowotworów i Epigenetyki Instytutu Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem dr hab. Agnieszki Grzelak.

Molekularne mechanizmy modulacji toksyczności nanocząstek srebra stanowią bardzo interesujący, aktualny i ważny temat badawczy. Nanocząstki te są jednymi z najczęściej wykorzystywanych nanomateriałów, które dzięki swoim właściwościom fizykochemicznym charakteryzują się istotnym potencjałem aplikacyjnym. Małe rozmiary nanosrebra nadają mu szereg unikalnych cech, w tym głównie silną i skuteczną aktywność przeciwdrobnoustrojową, która obok wysokiego przewodnictwa elektrycznego i cieplnego, stabilności termicznej, a także wysokiej rozpuszczalności w roztworach wodnych sprawia, że wachlarz zastosowań tego nanomateriału jest niezwykle szeroki. Skuteczne działanie antybakteryjne nanocząstek srebra determinuje ich wykorzystywanie w różnorodnych dziedzinach, takich jak przemysł spożywczy, medycyna, produkcja tekstyliów, elektroniki, kosmetyków czy zabawek. Intensywny postęp i coraz powszechniejsze użytkowanie produktów zawierających srebro w formie nanocząstek w licznych aplikacjach biomedycznych i konsumenckich skutkuje jednocześnie zwiększoną akumulacją tego nanomateriału w środowisku, a tym samym niekontrolowaną ekspozycją na nanosrebro. Budzi to uzasadniony niepokój dotyczący wpływu tych nanocząstek na organizm człowieka. Wyniki badań wskazują na toksyczność nanocząstek srebra zarówno *in vitro* jak i *in vivo*. Eksperymenty na licznych liniach komórkowych potwierdziły cytotoksyczność nanosrebra oraz jego zdolność do wywoływania odpowiedzi immunologicznej i genotoksyczności w komórkach wątroby, płuc, krwi oraz układu immunologicznego i nerwowego. Wyniki badań *in vitro* znajdują potwierdzenie w badaniach na zwierzętach modelowych, które to wykazały m.in., że ekspozycja na nanosrebro wywołuje dysfunkcje narządów wewnętrznych, w tym wątroby, nerek, śledziony oraz mózgu, ulegając akumulacji w tych narządach, co skutkuje działaniem toksycznym. Ze względu na coraz powszechniejsze wykorzystanie nanosrebra konieczne jest więc przeprowadzenie dokładnej

Szkoła Główna
Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie

Instytut Nauk
o Żywieniu Człowieka

ul. Nowoursynowska 159 C
02-776 Warszawa
+48 22 59 370 10
inzc@sggw.edu.pl
www.sggw.pl



oceny jego bezpieczeństwa dla organizmów i środowiska naturalnego. W ten nurt badań naukowych wpisują się badania zespołu dr hab. Agnieszki Grzelak, które wykazały toksyczność nanocząstek srebra, w tym zdolność nanosrebra do indukowania uszkodzeń DNA zależną od wewnątrzkomórkowego wytwarzania reaktywnych form tlenu i azotu, jak również, że dostępność glukozy może modyfikować toksyczność nanocząstek srebra poprzez wpływ na poziom parametrów obrony antyoksydacyjnej.

Analiza wpływu nanocząstek srebra na funkcjonowanie organizmu powinna być przeprowadzona w szerokim zakresie badań, w tym oceniającym oddziaływanie tego nanomateriału na poziomie molekularnym. W ostatnich latach szczególną uwagę zwracają doniesienia o istotnym udziale różnorodnych cząstek sygnalizacyjnych na modulację procesów zachodzących w organizmie. Do molekuł o szczególnej roli w regulacji szeregu procesów komórkowych należą mikroRNA (miRNA), które wpływają na ekspresję genów na poziomie potranskrypcyjnym. MiRNA regulują proliferację, różnicowanie, migrację czy apoptozę, czyli procesy, które są jednocześnie wymieniane wśród mechanizmów leżących u podłoża toksyczności nanosrebra. Biorąc pod uwagę powyższe informacje, należy stwierdzić, że cel badań opisanych w rozprawie doktorskiej Pani mgr Patrycji Paciorek, którym była ocena możliwości modulacji toksyczności nanocząstek srebra za pomocą miRNA w komórkach o różnym profilu metabolicznym determinowanym przez dostępność glukozy, był celem bardzo aktualnym i zasadnym. Badania mgr Patrycji Paciorek bardzo dobrze wpisują się w tematykę oceny toksyczności nanocząstek srebra na poziomie molekularnym oraz potrzeby poszukiwania strategii modyfikacji jego wpływu na procesy biologiczne, co czyni badania wykonane w ramach pracy doktorskiej niezwykle wartościowymi.

Rozprawa doktorska mgr Patrycji Paciorek ma charakter badawczy i została przedstawiona do recenzji w postaci 167-stronnicowej wersji drukowanej formatu A4 w twardej oprawie. Układ dysertacji jest typowy dla tego rodzaju monografii i składa się z następujących części głównych: *Wstęp* (30 str.), *Cel pracy* (1 str.), *Materiały wykorzystane w pracy* (4 str.), *Metody* (20 str.), *Wyniki* (50 str.), *Dyskusja* (23 str.), *Podsumowanie* (3 str.) oraz *Wnioski*. Rozprawę uzupełniają: spis treści, wykaz skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, suplement i bibliografia. Rozprawa doktorska zawiera 9 tabel, w tym dwie w suplemencie oraz 36 rycin wkomponowanych w tekst opisu wyników. Wszystkie ryciny posiadają obszerny opis, jednak Doktorantka przeoczyła opis dwóch z 9 tabel, które nie mają ani stosowych tytułów, ani odwołania w tekście (na str. 54 i 69). To przeoczenie uważam jednak za drobny błąd edytorski. Spis cytowanej literatury jest bardzo bogaty i składa się z 304 pozycji, z czego aż 180 prac zostało opublikowanych w ciągu ostatnich 10 lat (co stanowi około 60% cytowanej literatury), natomiast wśród nich aż 94 pochodzi z ostatnich 5 lat (co stanowi około 30% cytowanej literatury). Świadczy to o aktualności podjętego zagadnienia badawczego. Trzy z cytowanych artykułów stanowią dorobek zespołu naukowego, w którym pracowała Doktorantka. Należy podkreślić, że praca jest dość obszerna. Doktorantka nie ustrzegła się w niej licznych błędów językowych, stylistycznych i interpunkcyjnych, które w znacznym stopniu utrudniały zrozumienie treści powyższej rozprawy doktorskiej. Do tej kwestii powrócę w dalszej części recenzji.

We *Wstępie* Doktorantka opisała historię odkrycia miRNA oraz przedstawiła informacje dotyczące powstawania i dojrzewania tych cząstek sygnałowych, omówiła również rolę miRNA w regulacji procesów fizjologicznych na poziomie komórkowym. Przedstawiła także epigenetyczne mechanizmy zaangażowane w rozwój nowotworów,



w tym aktualne dane dotyczące funkcji miRNA w procesie kancerogenezy. Opisane zjawiska związane z proliferacją, migracją, a w szczególności ze zdolnością komórek do przejścia epitelialno-mezenchymalnego mają duże znaczenie dla zrozumienia uzyskanych w dalszej części rozprawy wyników. Bardzo interesujące są podrozdziały 1.6 oraz 1.7 opisujące sposoby modulacji miRNA oraz możliwości biomedycznego zastosowania miRNA jako markerów prognostycznych i diagnostycznych oraz strategii terapeutycznych opartych na tych cząstkach. W podrozdziałach tych Doktorantka opisuje możliwość modulacji poziomu miRNA w komórkach nowotworowych przy użyciu syntetycznych analogów miRNA lub inhibitorów miRNA, jak również cząsteczek lncRNA, co potencjalnie mogłoby skutkować przywróceniem prawidłowej ekspresji genów supresorowych i onkogenów oraz przyczynić się do przywrócenia homeostazy. Doktoranta, powołując się na najnowsze publikacje, w dojrzały i krytyczny sposób przedstawia także możliwości zastosowania miRNA jako strategii terapeutycznej będącej alternatywą dla klasycznych metod leczenia nowotworów, w tym omawia ograniczenia zastosowania miRNA w tych celach. Następnie przechodzi do omówienia zagadnienia nanomateriałów jako zanieczyszczeń środowiskowych, które mogą wpływać na homeostazę na poziomie komórkowym oraz całego organizmu, skupiając się przede wszystkim na charakterystyce badanych w przedłożonej do recenzji pracy nanocząstek srebra. Autorka opisuje właściwości nanocząstek srebra, ich wykorzystanie oraz wyniki badań wskazujących na ich toksyczne działanie, w tym zaburzenia funkcji mitochondriów, różnicowania komórek oraz przebiegu szlaków sygnałowych. Następnie - omawia drogi ekspozycji na nanosrebro, mechanizmy jego wnikania do komórek, przemiany, jakim podlegają nanocząstki w organizmie oraz mechanizm toksyczności związany z indukcją stresu oksydacyjnego wynikającego z produkcji reaktywnych form tlenu. W ostatnim podrozdziale *Wstępu* Doktorantka opisała właśnie rolę stresu oksydacyjnego jako czynnika sygnałowego. Koncepcję tematyczną całego wstępu, który świadczy o zrozumieniu podjętej problematyki badawczej, oceniam bardzo wysoko. Mam jednak uwagę dotyczącą chaotyczności w opisie podejmowanych zagadnień, która być może wynika ze złożoności problemu badawczego. Doktorantka, opisując dość trudne mechanizmy, często nie korzystała z zasady „od ogółu do szczegółu”, co w znacznym stopniu utrudniało zrozumienie, jak dane treści mają stanowić wprowadzenie do tematyki badań. Doskonałym uzupełnieniem, które pomogłoby czytelnikowi w zrozumieniu skomplikowanych molekularnych mechanizmów, np. powstawania i dojrzewania miRNA czy też roli sygnalizacyjnej stresu oksydacyjnego, byłyby ryciny, których niestety brakuje w ocenianej rozprawie. Dodatkowo Autorka często stosowała wtrącenia, podając przykłady omawianych zjawisk bez dokładnego omówienia, co dany przykład ma zobrazować. We *Wstępie* Doktorantka wprowadza wiele skrótów, które w tekście nie są następnie wykorzystywane, lub też stosuje skróty wcześniej niewyjaśnione. Przykładowo, na stronie 8 zastosowano skrót dsRNA, podczas gdy jego znaczenie zostało opisane na stronie 10. Ponadto, w niektórych miejscach Doktorantka używa zwrotów będących dosłownym tłumaczeniem z języka angielskiego. Na stronie 30 znajduje się charakterystyka nanocząstek srebra, które określone są jako „*indywidualne chemiczne*”. W języku polskim nanocząstki definiuje w prosty sposób jako cząstki materii. Doktorantka nie ustrzegła się także błędów językowych polegających na nieodpowiednim połączeniu wyrazów. Przykładowo, na stronie 35 znajduje się zdanie opisujące rolę przekąźnictwa komórkowego „*Organizmy wielokomórkowe polegają na sieci przekąźnictwa wewnątrz i zewnątrzkomórkowego, aby przeprowadzać procesy fizjologiczne na poziomie organizmalnym*”. Aby uniknąć niepotrzebnego spolszczenia angielskiego zwrotu



proponowałabym zredagować je w następujący sposób: „Przekaźnictwo wewnątrz - i zewnątrzkomórkowe pełni istotną rolę w zapewnieniu prawidłowego przebiegu procesów fizjologicznych zachodzących w organizmie”. Natomiast frazę „*możliwość czynnika transkrypcyjnego do wiązania z DNA*” znajdującą się na stronie 36 sugerowałabym zastąpić określeniem „zdolność czynnika transkrypcyjnego do wiązania z DNA”. Stosowane przez Autorkę sformułowania nie pomniejszają wartości merytorycznej pracy, jednak znacznie utrudniają zrozumienie opisywanych treści.

W następującym po wstępie rozdziale Doktorantka przedstawiła cele pracy, na który składały się: ocena wpływu nanocząstek srebra na (1) komórki Hep G2 o różnym fenotypie metabolicznym oraz (2) profil ekspresji miRNA, jak również (3) analiza możliwości modulacji toksyczności nanosrebra przez wybrane miRNA. Cele pracy zostały zdefiniowane prawidłowo oraz odpowiadają zawartości pracy. Brak jest natomiast syntetycznie przedstawionych hipotez badawczych, które pomogłyby w weryfikacji celów pracy. To przeoczenie uważam za istotne, szczególnie że Doktorantka w dalszej częściach rozprawy kilkakrotnie odnosi się do weryfikacji postawionych hipotez badawczych (np. na str. 62, 64, 84 i 110).

W kolejnej części rozprawy Autorka w wyczerpujący i szczegółowy sposób opisała zastosowaną w czasie przeprowadzania swoich badań metodykę, która obejmuje dwa rozdziały pracy. W rozdziale 3 – *Materiały wykorzystane w pracy* podała informacje dotyczące linii komórkowej, pożywek, materiałów i odczynników niezbędnych do hodowli oraz wykonania analiz zaplanowanych w ramach pracy, jak i urządzeń, za pomocą których przeprowadzono badania. Natomiast w rozdziale 4 – *Metody* w dość przystępny sposób opisała metodykę wykonania poszczególnych eksperymentów i analiz na uzyskanym materiale biologicznym. Dobrym sposobem usystematyzowania informacji o materiałach i metodach było podzielenie tej części rozprawy na dwa osobne podrozdziały. Nie mam zastrzeżeń co do metod użytych w pracy, które pozwoliły na realizację celów pracy oraz wskazują na samodzielność pracy badawczej Doktorantki. Na podkreślenie zasługuje bardzo bogaty warsztat badawczy Doktorantki. Do tej części rozprawy mam jednak kilka uwag, sugestii i pytań. Wyjaśnienie poniższych kwestii ma na celu uzupełnienie informacji przedstawionych przez Doktorantkę.

1. W podrozdziale 4.2 opisano metodę przygotowania nanocząstek srebra. Istotnym przeoczeniem jest jednak pominięcie informacji o właściwościach fizykochemicznych stosowanych nanocząstek, takich jak kształt, nominalna wielkość, średnica hydrodynamiczna, indeks polidispersyjności oraz potencjał zeta. Dopełnieniem charakterystyki nanocząstek srebra powinny być także zdjęcia wykonane za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego lub transmisyjnego mikroskopu elektronowego, które zazwyczaj można pobrać ze strony producenta. Informacje te są niezbędne do interpretacji uzyskanych wyników. Dane literaturowe sugerują, że właściwości fizykochemiczne nanocząstek są jednym z kluczowych czynników determinujących ich losy. Do cech wpływających na reaktywność i toksyczność nanomateriałów zaliczyć można kształt, wielkość cząstek, ich skład pierwiastkowy, ładunek powierzchniowy, tendencję do agregacji i zastosowany w celu stabilizacji materiałów opłaszczający. Wszystkie wspomniane czynniki determinują wychwytywanie nanocząstek przez komórki oraz ich cytotoksyczność.
2. W opisie analizy ekspresji białek metodą Western blot (podrozdział 4.11.3, na str. 53) wśród podanych informacji na temat stosowanych przeciwciał zarówno I- jak

- i II- rzędowych oprócz nazwy producenta powinny znaleźć się także numery katalogowe przeciwciał, gdyż w większości przypadków producenci oferują więcej niż jeden rodzaj przeciwciał swoistych dla danego białka.
3. W podrozdziale 4.10 opisującym analizę komórek apoptotycznych i nekrotycznych metodą podwójnego barwienia Hoechst 33342/jodek propidyny Doktorantka powinna opisać, w jakim materiale biologicznym były wykonywane oznaczenia. Z opisu wyników można wnioskować, że analizy te zostały wykonane na komórkach hodowanych w pożywce z wyższym dodatkiem glukozy poddanych działaniu nanocząstek srebra, jednak informacje te powinny znaleźć się w rozdziale dotyczącym metodyki.
 4. W opisie doświadczenia *in vivo* należałoby podać informację, jaki narząd był poddawany badaniom profilu miRNA. W rozprawie znajduje się tylko następujące zdanie na ten temat „ *Próbki z tkanek poddanych perfuzji przepłukano buforem PBS i wyizolowano z nich miRNA.*”
 5. W opisie metod brakuje podrozdziału dotyczącego zastosowanej analizy statystycznej uzyskanych wyników. To przeoczenie uważam za istotne. Jednocześnie brakuje wyjaśnienia doboru testów post-hoc. Z rozdziału 5. – *Wyniki*, z podpisów pod wykresami można dowiedzieć się, że Doktorantka stosowała różne testy statystyczne, w tym test t-Studenta i ANOVA z testami post-hoc Tukeya, Bonferroniego i Dunnetta. Nie wiadomo także, w jaki sposób zostały zaprezentowane wyniki, w tym w wielu miejscach nie jest opisane, czy widoczne na wykresach słupki błędów przedstawiają odchylenie standardowe czy błąd standardowy średniej.

Następny rozdział rozprawy opisuje wyniki przeprowadzonych eksperymentów. Na 50 stronach dysertacji zostały przedstawione rezultaty badań, do których Doktorantka dołączyła zestawienia w formie 36 rycin i 6 tabel. Autorka w sposób dość uporządkowany opisuje uzyskane wyniki, uzupełniając je informacjami dotyczącymi zasad stosowanych metod oraz komentarzami będącymi omówieniem i wyjaśnieniem uzyskanych obserwacji. Początkowo Autorka opisuje cytotoksyczność nanocząstek srebra, która była znacząco wyższa w stosunku do komórek hodowanych w pożywce zawierającej glukozę w stężeniu 25 mmol/dm^3 . W toku badań Doktorantka potwierdziła, że nanocząstki srebra, w komórkach hodowanych w medium o wyższej zawartości glukozy, stymulują kolonogenność, potencjał inwazyjny oraz zdolność do migracji, jak również wywołują zmiany w cyklu komórkowym, polegające na wzroście odsetka komórek w fazie G2. Badania Doktorantki wykazały także, że nanocząstki srebra spowodowały znaczny wzrost liczby komórek nekrotycznych, jak również ilości powstających reaktywnych form tlenu i nadtlenków lipidów oraz spadek poziomu NADP/NADPH i hiperpolaryzację błony mitochondrii w linii komórek Hep G2 hodowanych w pożywce z wyższą zawartością glukozy. Bardzo istotnym etapem badań była identyfikacja miRNA, które odgrywają znaczącą rolę w odpowiedzi na działanie nanocząstek srebra w komórkach Hep G2 o różnym profilu metabolicznym. Doktorantka na podstawie wyników uzyskanych dla komórek hodowanych w medium o wysokiej zawartości glukozy wytypowała 5 miRNA, których ekspresja ulegała znaczącym zmianom do dalszych doświadczeń, przeprowadzanych na komórkach transfekowanych syntetycznymi analogiami zidentyfikowanych miRNA o zachowanym transkrypcie. Wybrane miRNA zaangażowane są w mechanizmy proliferacji i lekooporności i ich ekspresja była istotnie obniżona pod wpływem nanocząstek. Po weryfikacji efektywności transfekcji Doktorantka potwierdziła

możliwość modulacji toksyczności nanocząstek srebra poprzez zmianę poziomu wybranych miRNA. Pod wpływem traktowania transfekowanych syntetycznymi analogami wyselekcjonowanych miRNA komórek nanocząstkami srebra i Doktorantka wykazała wzrost odporności komórek linii Hep G2 na nanocząstki srebra oraz zmiany profilu białek przejścia epithelialno-mezenchymalnego (EMT), w tym głównie N-kadheryny i E-kadheryny, wskazujące na obniżenie potencjału komórek Hep G2 do EMT. Transfekcja analogami miRNA wpłynęła także na poziom reaktywnych form tlenu, produktów peroksydacji lipidów oraz poziom NADP/NADPH, przywracając je do wartości zbliżonych do kontroli. Badania profilu miRNA u zwierząt laboratoryjnych poddanych działaniu nanocząstek srebra drogą przewodu pokarmowego oraz dożylną nie wykazały wpływu tego nanomateriału. Koncepcję badań przeprowadzonych przez Doktorantkę oceniam bardzo wysoko. Uzyskane wyniki wskazują na toksyczność nanocząstek srebra zależną od profilu metabolicznego komórek, co ma istotne znaczenie przy analizie ryzyka narażenia środowiskowego na nanosrebro. Ma to szczególne implikacje w obliczu danych epidemiologicznych, zgodnie z którymi zaburzenia glikemii są jednym z najczęściej występujących zaburzeń metabolicznych zwiększających ryzyko nowotworów. Niezwykle cenne są wyniki wskazujące na możliwość modulacji toksyczności nanocząstek srebra poprzez stosowanie syntetycznych analogów miRNA. Z obowiązku recenzenta chciałabym jednak zwrócić uwagę na kilka nieścisłości występujących w tej części pracy doktorskiej:

1. Tabela 2 przedstawiająca wpływ nanocząstek srebra na szybkość proliferacji jest dość trudna do zrozumienia dla czytelnika. Kolory, którymi Doktorantka oznaczyła wyniki analizy statystycznej, są mało widoczne i ponieważ występują w różnych odcieniach - niejednoznaczne. Lepiej byłoby zastosować oznaczenia litrowe lub symbole dla określenia różnic pomiędzy grupami.
2. Wybór miRNA do dalszych doświadczeń powinien być poparty wynikami zestawionymi, np. w tabeli pokazującej zmiany ekspresji wyselekcjonowanych miRNA. Doktorantka przedstawiła te wyniki w postaci heatmap, na której jedynie orientacyjnie można prześledzić zmianę w poziomie ekspresji miRNA. Ponadto, w podrozdziale 5.2 opisującym te analizy Doktorantka zamieściła tabelaryczne zestawienie badanych miRNA, co w mojej opinii powinno znaleźć się w rozdziale 4 – *Metody*. Jednocześnie wybór miRNA do dalszych doświadczeń powinien być omówiony bardziej wnikliwie. Proszę o komentarz.
3. Tabela na stronie 69 jest początkowo trudna do zrozumienia i być może powinna znaleźć się tuż obok Rysunku 3 (str. 70), w którego podpisie znajduje się jej opis, w tym symboli oznaczających stwierdzone różnice statystyczne.
4. Na rycinach obrazujących uzyskane wyniki Doktorantka stosuje zróżnicowane symbole i oznaczenia literowe dla zobrazowania wyników analizy statystycznej. Wykorzystanie kilku metod oznaczania istotności statystycznej utrudnia interpretację wyników. Znacznie lepszym podejściem byłoby stosowanie jednakowych oznaczeń w całej pracy. Ponadto, nie zawsze jest jasne pomiędzy jakimi grupami występują różnice. Przykładowo, na wykresach na str. 79 gwiazdki są umieszczone pomiędzy słupkami. W przypadku stosowania oznaczeń literowych, Doktorantka podaje, że „litery a, b, c, ... oznaczają istotną statystycznie różnicę między daną parą wyników. Z opisu nie wynika jednak, czy różnica zaznaczona jest tymi samymi literami (aa, bb, cc, ...), czy różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (ab, ac, cb, ...). Dodatkowo, na Rysunku 21

Doktorantka oznaczyła znakiem # „parę wyników w danym zestawieniu, między którą nie zaobserwowano istotnej statystycznie różnicy”, podczas gdy różnice opisane w tekście nie zostały oznaczone na wykresie. Zdaniem Recenzenta znacznie lepszym sposobem oznaczania istotności jest stosowanie linii/klamr obrazujących, między którymi grupami występują różnice istotne statystycznie oraz przyjęcie jednego z symboli do oznaczeń różnic z grupą kontrolną (np. *).

5. Trudne do interpretacji są także wykresy obrazujące odsetek poszczególnych komórek w poszczególnych fazach cyklu komórkowego (Rysunek 23 str. 97 oraz Rysunek 24 str. 99). Doktorantka przedstawiła powyższe wyniki na trzech wykresach o różnej skali. Ponadto, na wykresach nie zaznaczono różnic istotnych statystycznie opisanych w tekście (Rysunek 23 str. 97). Dobrym uzupełnieniem wyników przedstawionych na wykresach byłoby załączenie reprezentatywnego histogramu z programu FlowJo dla każdej grupy.

Kolejną częścią rozprawy doktorskiej jest *Dyskusja*, w której Doktorantka szczegółowo omawia i tłumaczy uzyskane wyniki, potwierdzając swoje tezy danymi literaturowymi. W moim odczuciu w rozdziale tym brakuje jednak skonfrontowania wyników własnych z dostępną literaturą. Doktorantka nie wskazuje również możliwości wykorzystania danych otrzymanych w toku badań. W następnym rozdziale 7 – *Podsumowanie*, Doktorantka dokonuje syntetycznego omówienia swoich wyników, przedstawiając je w nieco szerszym kontekście. Bardzo wysoko oceniam nakreślenie istotności prowadzonych badań, co pozwala na ich pełniejsze zrozumienie. Doktorantka odnosi się tu do rosnącego problemu zaburzeń zdrowia na tle cukrzycowym oraz ryzyka, jakie za sobą niesie środowiskowe narażenie na nanosrebro. Ostatni – 8 rozdział dysertacji – *Wnioski* to 7 najważniejszych, trafnie postawionych wniosków z przeprowadzonych badań i obserwacji.

Na koniec chciałabym podkreślić, że pomimo uwag i pytań sformułowanych w niniejszej recenzji rozprawę doktorską Pani mgr Patrycji Paciorek oceniam wysoko i uważam, że otrzymane wyniki stanowią bardzo istotny wkład w poszerzenie wiedzy z zakresu nanotoksykologii. Mam nadzieję, że powyższe uwagi pomogą Pani mgr Patrycji Paciorek w przygotowaniu wartościowych publikacji z uzyskanych wyników.

Wniosek końcowy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr Patrycji Paciorek pt. "Rola miRNA w toksyczności nanocząstek srebra" odpowiada warunkom określonym w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 z późniejszymi zmianami). W związku z tym wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie mgr Patrycji Paciorek do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Katarzyna Dziendzikowska

Katarzyna Dziendzikowska

