

Prof. dr hab. n. med. Bohdan Górski
Katedra i Zakład Patomorfologii
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego
w Szczecinie
ul. Unii Lubelskiej 1
71-242 Szczecin

Szczecin 31.01.2020

Recenzja

dorobku naukowego i pracy habilitacyjnej pt.: „Ocena stresu oksydacyjnego i indukcji śmierci komórkowej (programowanej i nieprogramowanej) w komórkach prawidłowych i nowotworowych pod wpływem fizycznych, chemicznych i naturalnych czynników (promieniowanie jonizacyjne IR, daleka czerwień FR, ftalocyjaniny PDT, fluorescencyjne nośniki leków, resveratrol i berberyna) w warunkach in vitro.”

w postępowaniu habilitacyjnym dr Magdaleny Skoniecznej w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie: biologia medyczna, Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie.

Dr Magdalena Skonieczna w roku 2002 uzyskała tytuł magistra biologii w zakresie biologii molekularnej, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza na Wydziale Biologii, w Instytucie Biologii Molekularnej i Biotechnologii w Poznaniu, broniąc pracę pt: „Rola i udział cGMP w regulacji ekspresji genu syntazy chalkonowej u *Arabidopsis thaliana*”. W tym samym roku rozpoczęłam studia doktoranckie na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu na Wydziale Biologii, w Instytucie Biologii Eksperymentalnej, a w roku 2007 uzyskała tytuł doktora nauk biologicznych w zakresie biologii - fizjologii zwierząt po obronie pracy pt. „Funkcje neuropeptydów z rodziny FMRF-amidu u chrząszczy”. W latach 2006-2008 pracowała jako specjalista biolog na Politechnice Śląskiej w Gliwicach, w Instytucie Informatyki, Zakładu Teorii i Projektowania Systemów Komputerowych. W latach 2007-2012 i 2016-2017 była wykładowcą Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Katedry Fizjologii, a od 2017 do chwili obecnej wykładowcą Katedry Patofizjologii na tym Uniwersytecie. Od 2008 roku do chwili obecnej pracuje na Politechnice Śląskiej w Gliwicach w Instytucie Automatyki w Zakładzie Inżynierii Systemów, na stanowisku adiunkta.



Dorobek naukowy

Z danych przedstawionych w autoreferacie przez Dr Skonieczną wynika, że na dorobek naukowy nie wliczając prac wchodzących w skład osiągnięcia składa się 29 prac o łącznym Impact Factor: 65,61 i punktacja MNiSW: 749.

Przedstawiona przez Bibliotekę Główną Politechniki Śląskiej analiza cytowań publikacji Doktor Skoniecznej opublikowanych w latach 2006-2019 w oparciu o bazę Web of Science (WoS) wskazuje na 36 publikacji, które były cytowane (bez autocytowań) 231 razy. Sumaryczny IF= 130.135 a Index Hirscha wynosi 9.

Czterokrotnie była wykonawcą projektów naukowych. Z przedstawionej przez Dr Skonieczną dokumentacji nie wynika by Kandydatka była kierownikiem projektu NCN.

Od 2017 roku bierze udział w realizacji Grantu habilitacyjnego Rektora Politechniki Śląskiej.

Ocena pracy habilitacyjnej

Przesłana do oceny praca habilitacyjna pt.: „Ocena stresu oksydacyjnego i indukcji śmierci komórkowej (programowanej i nieprogramowanej) w komórkach prawidłowych i nowotworowych pod wpływem fizycznych, chemicznych i naturalnych czynników (promieniowanie jonizacyjne IR, daleka czerwień FR, ftalocyjaniny PDT, fluorescencyjne nośniki leków, resveratrol i berberyna) w warunkach in vitro.” stanowi cykl sześciu publikacji, jak podaje kandydatka wszystkie prace powstały po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych.

1. Magdalena Skonieczna, Tomasz Hejmo, Aleksandra Poterala-Hejmo, Artur Cieslar-Pobuda and Rafal J. Buldak. *NADPH Oxidases: Insights into Selected Functions and Mechanisms of Action in Cancer and Stem Cells*. Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2017, Article ID 9420539, 15 pages <https://doi.org/10.1155/2017/9420539>. Impact Factor: **4.936**; punktacja MNiSW: **30**

Kandydatka szacuje swój udział procentowy na 70%. Polegał on na: koncepcyjnym ujęciu publikacji przeglądowej, napisaniu wstępnej wersji manuskryptu, przygotowaniu figur oraz dokonaniu przeglądu literaturowego, a także na merytorycznej korekcie wersji końcowej i korespondencji z wydawnictwem. Jak podaje jest pomysłodawcą i autorem korespondencyjnym.

2. Magdalena Skonieczna, Artur Cieslar-Pobuda, Yuriy Saenko, Marek Foksinski, Ryszard Olinski, Joanna Rzeszowska-Wolny, Emilia Wiechec. *The Impact of DIDS-Induced Inhibition of Voltage-Dependent Anion Channels (VDAC) on Cellular Response of Lymphoblastoid Cells to Ionizing Radiation*. Medicinal Chemistry Volume 13 , Issue 5 , 2017



DOI : 10.2174/1573406413666170421102353.

Impact Factor: **2.631**; punktacja MNiSW: **20**

Kandydatka szacuje swój udział procentowy na 40%. Polegał on na: wykonaniu eksperymentów biologicznych, głównie cytometrycznych pomiarów, opracowaniu i analizie wyników, przygotowaniu na ich podstawie figur, a także na napisaniu części manuskryptu (metodyka i dyskusja wyników), jego korekcie po recenzjach i przygotowaniu wersji finalnej. Jak podkreśla Doktor Skonieczna jest jednym z głównych wykonawców badań biologicznych.

3. Nackiewicz J, Kliber-Jasik M, **Skonieczna M.** *A novel pro-apoptotic role of zinc octacarboxyphthalocyanine in melanoma Me45 cancer cell's photodynamic therapy (PDT).*

Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology 190 (2019) 146–153.

<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.002>.

Impact Factor: **3.165**; punktacja MNiSW: **30**

Kandydatka szacuje swój udział procentowy na 40%. Polegał on na: koncepcyjnym ujęciu biologicznej części pracy, wykonaniu eksperymentów biologicznych, głównie pomiarów cytometrycznych, cytotoksyczności, obrazowaniu mikroskopowym, opracowaniu i analizie wyników, przygotowaniu na ich podstawie figur, a także na napisaniu biologicznej części manuskryptu wraz z dyskusją, korekcie po recenzjach i przygotowaniu wersji finalnej. Podkreśla, że jej udział jest równy z pierwszym autorem jak również to, że jest pomysłodawcą i autorem korespondencyjnym.

4. Anna Mielanczyk, **Magdalena Skonieczna**, Katarzyna Bernaczek and Dorota Neugebauer. *Fluorescein nanocarriers based on cationic star copolymers with acetal linked sugar cores.* Synthesis and biochemical characterization. *RSC Adv.*, 2014, 4(60):31904-31913. DOI: 10.1039/C4RA03579H.

Impact Factor: **3.840**; punktacja MNiSW: **35**

Kandydatka szacuje swój udział procentowy na 30%. Polegał on na: koncepcyjnym ujęciu biologicznej części pracy, wykonaniu eksperymentów biologicznych, w tym pomiarów cytometrycznych, cytotoksyczności, obrazowaniu mikroskopowym, opracowaniu i analizie wyników, przygotowaniu na ich podstawie figur, a także na napisaniu biologicznej części manuskryptu wraz z dyskusją, korekcie po recenzjach i przygotowaniu wersji finalnej. Zaznacza, że jest pomysłodawcą i głównym wykonawcą badań biologicznych.



5. Anna Mielańczyk, Magdalena Skonieczna, Dorota Neugebauer. *Cellular response to star-shaped polyacids. Solution behavior and conjugation advantages.* Toxicology Letters Volume 274, 15 May 2017, Pages 42-50.

Impact Factor: **3.166**; punktacja MNiSW: **35**

Kandydatka szacuje swój udział procentowy na 30%. Polegał on na: koncepcyjnym ujęciu biologicznej części pracy, wykonaniu eksperymentów biologicznych, w tym pomiarów cytometrycznych, cytotoksyczności, obrazowaniu mikroskopowym, opracowaniu i analizie wyników, przygotowaniu na ich podstawie figur, a także na napisaniu biologicznej części manuskryptu wraz z dyskusją, korekcie po recenzjach i przygotowaniu wersji finalnej. Zaznacza, że jest pomysłodawcą i głównym wykonawcą badań biologicznych.

6. Magdalena Skonieczna, Dorota Hudy, Aleksandra Poterala-Hejmo, Tomasz Hejmo, Rafał J. Buldak, Arkadiusz Dziedzic. *Effects of Resveratrol, Berberine, and Their Combinations on Reactive Oxygen Species, Survival, and Apoptosis in Human Squamous Carcinoma (SCC-25) Cells.* Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry DOI : 10.2174/1871520619666190405111151.

Impact Factor: **2.556**; Punktacja MNiSW: **35**

Kandydatka szacuje swój udział procentowy na 70%. Polegał on na: na koncepcyjnym ujęciu tematu, zaplanowaniu i wykonaniu wszystkich eksperymentów, opracowaniu wyników, napisaniu wstępnej wersji manuskryptu, przygotowaniu figur oraz dokonaniu przeglądu literaturowego, a także merytorycznej korekcie wersji końcowej, poprawie manuskryptu po recenzjach i korespondencji z wydawnictwem. Zaznacza, że jest pomysłodawcą i autorem korespondencyjnym.

Łączny IF osiągnięcia naukowego, który jest podstawą do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego wynosi: **20,294** ; liczba punktów MNiSW = **185**.

Cyk publikacji stanowiący podstawę osiągnięcia naukowego habilitantka poprzedziła autoreferatem w polskiej i angielskiej wersji językowej. Autoreferat prezentuje kierunki badań, którym przewodziła Pani Doktor Magdalena Skonieczna. Kandydatka w trzech publikacjach jest pierwszym autorem, w dwóch publikacjach drugim i w jednej trzecim.

Analizując cele naukowe osiągnięcia habilitantki dostrzegam dwa wiodące nurty badań. Badania oceny stresu oksydacyjnego i indukcji śmierci komórkowej, w komórkach prawidłowych i nowotworowych pod wpływem czynników fizycznych i chemicznych. W skład pierwszego nurtu wchodzi publikacje 1, 2, 3 i 6.



Drugim nurtem badań jest opisanie właściwości syntetycznych polimerowych nanocząstek jako potencjalnych nośników leków. Mowa tu o publikacjach: 4 i 5.

Jednymi z najważniejszych czynników biorących udział w regulacji fizjologii eukariotów są reaktywne formy tlenu (RFT), które pełnią między innymi rolę mediatorów w procesach wzrostu, dojrzewania i apoptozy komórek, jak również odpowiadają za istnienie stanu zapalnego oraz regulują poziom energii w komórkach.

Oksydazy NADPH (NOX) należą do grupy enzymów generujących reaktywne formy tlenu (RFT) przez co wpływają na liczne szlaki sygnałowe zależne od stanu 'redox' w komórkach. Autorka dokonała w pracy przeglądowej (publikacja 1) omówienia znaczenia NOX i produkowanych przez nie RFT dla funkcjonowania komórek nowotworowych i nowotworowych komórek macierzystych, ze szczególnym uwzględnieniem roli NOX w różnicowaniu, odnowie, proliferacji oraz procesach angiogenezy i metastazy. Zawarte w niej informacje nie nakreślają jednak kierunków badań prezentowanych w pracach badawczych autorki, same zaś oksydazy NADPH nie stanowią bezpośredniego przedmiotu badań opisywanych przez habilitantkę w prezentowanym osiągnięciu.

Tematyką badań opisanych w kolejnej pracy (publikacja 2) było określenie roli mitochondrialnych kanałów błonowych VDAC w odpowiedzi komórek ludzkiej linii białaczkowej K562 na promieniowanie jonizujące. W opisanym układzie eksperymentalnym, poza ekspozycją komórek na zmienne dawki promieniowania jonizującego zastosowano inhibitor kanałów VDAC – kwas 4, 4'-diizotiocyjano-2,2'-stilbeno-disulfonowy (DIDS). Autorka opisała synergistyczny efekt zastosowania inhibitora - DIDS i promieniowania jonizującego na indukcję apoptozy komórek linii K562. Uzyskane wyniki wskazują na znaczącą rolę VDAC w kontroli odpowiedzi komórek na promieniowanie jonizujące poprzez modulację szlaków sygnałowych zależnych od reaktywnych form tlenu oraz tlenków azotu.

Trzecia publikacja autorki przedstawia wyniki badań nad eksperymentalnym modelem terapii fotodynamicznej czerniaka „in vitro” z wykorzystaniem ludzkiej linii tego nowotworu – Me45 oraz hodowli prawidłowych fibroblastów. Wbrew opisowi przedstawionemu w autoreferacie czerniak nie wywodzi się z keratynocytów, tylko z melanocytów.

Jako fotouczulacz zastosowano ftalocyjaninę cynkową wzbudzaną światłem o długości fali 685 nm. Już przy niskich stężeniach aktywowanej światłem czerwonym ftalocyjaniny cynkowej autorka obserwowała nasiloną, indukowaną reaktywnymi formami tlenu apoptozę badanych komórek. Przy stężeniu 30 μ M ftalocyjaniny cynkowej naświetlanej światłem czerwonym w dawce 2,5 J/cm² wykazano wyższy efekt proapoptotyczny wobec komórek czerniaka w porównaniu do fibroblastów.



Tematyka dwóch kolejnych prac Dr Skoniecznej (publikacja 4 i 5) poświęcona jest badaniu syntetycznych nanocząstek organicznych w kontekście ich wykorzystania jako potencjalne nośniki leków w terapii onkologicznej.

Publikacja 4 przedstawia opis syntezy 5 wariantów nanocząstek będących kopolimerami metakrylanu glicydyli i metakrylanu metylu, z analizą ich właściwości fizykochemicznych w roztworach wodnych i DMSO. Utworzone nanocząstki sprzęgano poprzez wiązanie amidowe z fluoresceiną. Dane prezentowane w publikacji przedstawiają opis eksperymentów nad cytotoksycznością nieskoniugowanych z fluoresceiną nanocząstek wobec ludzkiej linii komórek raka jelita grubego HCT-116 i hodowli fibroblastów.

W autoreferacie autorka prezentuje powyższe wyniki jako uzyskane z użyciem nanocząstek z wbudowaną fluoresceiną mimo, iż w publikacji zawarta jest informacja, iż dla tych nanocząstek przeprowadzono jedynie testy internalizacji.

Nieznakowane nanocząstki wykazywały nasilone efekty cytotoksyczne wobec komórek HCT-116 w porównaniu do wyników uzyskanych z użyciem hodowli fibroblastów.

Opisane w publikacji wyniki testów internalizacji wskazują na podobną lokalizację wyznakowanych fluoresceiną nanocząstek które obserwowano głównie w okolicach błony komórkowej oraz regionach około jądrowych cytoplazmy zarówno w komórkach HCT-116 jak i fibroblastach. Natomiast w autoreferacie autorka wskazuje na preferencyjny wychwyt nanocząstek przez komórki rakowe oraz na jądrową ich lokalizację w tych komórkach.

Publikacja nr 5 opisuje eksperymenty z użyciem nanocząstek o odmiennym niż opisano poprzednio składzie, które w tym przypadku były kopolimerami kwasu metakrylowego i metakrylanu metylu. Pomyślnie przeprowadzono syntezę koniugatów powyższych cząstek z fluoresceiną i doksorubicyną. Jak przedstawiono w publikacji, produkt sprzężenia nanocząstek z doksorubicyną charakteryzował się brakiem rozpuszczalności w wodzie co uniemożliwiło przeprowadzenie eksperymentów biologicznych z jego udziałem.

W przedstawionym w autoreferacie opisie powyższej publikacji o fakcie tym nie ma wzmianki, omówienie zaś uzyskanych wyników sugeruje, że eksperymenty biologiczne z udziałem koniugatu doksorubicyny z polimerowymi nośnikami leku miały miejsce.

Habilitantka przedstawia wysoką efektywność dostarczania leku do komórek nowotworowych pomimo faktu, że wg publikacji eksperymenty te nie miały miejsca. Przedstawiona w autoreferacie ryc.9 obrazuje brak toksycznego efektu nanocząstek nieskoniugowanych oraz związanych z fluoresceiną wobec komórek lini HCT-116. Rycina ta wg. Habilitantki ma potwierdzać, że zastosowane nośniki, same są neutralne, dopiero sprzęgnięte z lekiem wywołują oczekiwany efekt – wykazują pro-apoptotyczne działanie'. Opisane w publikacji testy

internalizacji nanocząstek sprzężonych z fluoresceiną wykazały ich wolniejszą migrację do wnętrza badanych komórek w porównaniu z cząstkami opisanymi w poprzednio omawianej publikacji. Badane nanocząstki gromadziły się w cytoplazmie. Obecność punktowych sygnałów tłumaczona jest w publikacji efektem nakładania się komórek, nie zaś jądrową lokalizacją nanocząstek co habilitantka przedstawia w autoreferacie.

Ostatnia z prezentowanych publikacji dr Skoniecznej prezentuje wpływ berberyny i resweratrolu na komórki ludzkiej linii raka kolczysto komórkowego SCC-25. 24 godzinna inkubacja komórek z berberyną skutkowała nekrozą 2% badanych komórek, zaś z resweratrolem wywołała apoptozę 1% komórek SCC-25. Zaznaczyć należy że liczba komórek apoptotycznych po zastosowaniu resweratrolu była niższa w całym badanym zakresie stężeń tej substancji niż wśród komórek kontroli. Zastosowanie jednocześnie obu związków w maksymalnym badanym stężeniu (10ug/ml) skutkowało śmiercią nekrotyczną 20% badanych komórek. Autorka wykazała wzrost parametrów stresu oksydacyjnego w uszkodzonych komórkach.

Zarówno resweratrol jak i berberyna charakteryzują się bardzo niską dostępnością biologiczną (<1%).

Stężenia uzyskiwane w surowicy po suplementacji powyższymi związkami określone zostały na nie przekraczające 1ug/ml. Analizując dane zawarte w tabeli 5 (powyższej publikacji) w zakresie stężeń do 1,25 ug/ml mieszanin resweratrolu i berberyny, widoczny jest efekt stymulacji żywotności komórek. Efekty cytotoksyczne pojawiają się powyżej stężenia 2,5 ug/ml z wyraźnym antagonistycznym działaniem obydwu substancji. Zawarty przez dr Skonieczną w autoreferacie postulat doustnej suplementacji berberyną i resweratrolem u pacjentów nowotworowych w świetle przedstawionych wyników wydaje się nieuzasadniony.

Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego.

Dr Magdalena Skonieczna w ramach działalności dydaktycznej prowadziła liczne wykłady. Jak podaje od 2007 roku była promotorem ponad 80 praktycznych prac dyplomowych inżynierskich i magisterskich studentów Politechniki Śląskiej w Gliwicach, w ramach międzywydziałowego kierunku Biotechnologia i Biotechnologia Medyczna. Kandydatka trzykrotnie była promotorem pomocniczym rozpraw doktorskich, (jeden przewód zakończony sukcesem, dwa w toku). Recenzowała prace w krajowych i międzynarodowych czasopismach naukowych. Odbyla trzy miesięczny zagraniczny staż podoktorski oraz uczestniczyła w krajowych i zagranicznych szkoleniach.



Doktor Skonieczna od 2017 roku jest członkiem Polskie Towarzystwo Badań Radiacyjnych (PTBR), od 2010 członkiem European Association for Cancer Research oraz członkiem zarządu Stowarzyszenie na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, a od 2009 roku członkiem Polskie Towarzystwo Fizjologiczne w których działa do chwili obecnej.

Podsumowanie

W podsumowaniu oceny osiągnięć naukowych i dorobku będącego podstawą do nadania dr Madgalenie Skoniecznej doktora habilitowanego stwierdzam, że spełniają one wymogi formalne określone w Ustawie z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, ze zmianami Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, Dz. U. z 2010 r. Nr 96, poz. 620 i Nr 182, poz. 1228 oraz Dz. U. z 2011 r. Nr 84 poz. 455).

Z uwagi na opublikowanie prac stanowiących osiągnięcie w czasopismach z IF wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie o nadanie Pani doktor Magdalenie Skoniecznej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna.


Prof. dr hab. n. med. Bohdan Górski