



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Prof. Dr hab. Anna M. Osyczka
Zakład Biologii i Obrazowania Komórki
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii
Uniwersytet Jagielloński, Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
II piętro, segment C (pracownia); I piętro, segment D, pokój 1.93 (gabinet)
Pracownia tel. (12) 664-5336, -5346, -5348, -6472
Gabinet tel. (12) 664-5342
E-mail: anna.osyczka@uj.edu.pl

Kraków, 15 lipca 2024 r.

Ocena osiągnięcia naukowego pt. „**Toksyczność i mechanizmy działania wybranych pierwiastków przejściowych ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływania chromu(III) z innymi pierwiastkami - badania *in vitro***”.

Recenzję wykonano w związku z toczącym się postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dr Sylwii Terpiłowskiej w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne przed Radą Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego.

Podstawę opinii stanowiły: Wniosek Dr Sylwii Terpiłowskiej o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie i dyscyplinie jw. oraz załączniki do wniosku, tj.

1. Dane wnioskodawcy PL i ENG (załącznik 1)
2. Kopia dyplomu potwierdzającego nadanie stopnia doktora (załącznik 2)
3. Autoreferat PL i ENG (załącznik 3)
4. Kopie publikacji naukowych wchodzących w skład głównego osiągnięcia habilitacyjnego (załącznik 4)
5. Oświadczenia o wkładzie współautorów w prace objęte osiągnięciem (załącznik 5)
6. Wykaz osiągnięć naukowych PL i ENG (załącznik 6)
7. Kopie dokumentów potwierdzających odbycie staży naukowych oraz pierwsze strony publikacji powstałych w nowej jednostce naukowej (załącznik 7)

Dokumentacja stanowiąca podstawę do ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego została przygotowana zgodnie z przepisami opublikowanymi w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

I. Przebieg kariery naukowej Dr Sylwii Terpiłowskiej

Pani Dr Sylwia Terpiłowska jest absolwentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, gdzie w 2000 roku

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii

i Obrazowania Komórki

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: 12 664 53 37

fax: 12 664 50 99



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

złożyła pracę magisterską i otrzymała dyplom ukończenia studiów wyższych na kierunku Biologia, w specjalności Mikrobiologia. W 2007 roku ukończyła również studia podyplomowe na Wydziale Nauk Społecznych Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II. W 2008 roku otrzymała stopień naukowy doktora nauk weterynaryjnych z zakresu immunologii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie i została wyróżniona przez ww. Radę Wydziału za rozprawę doktorską pt. „Wpływ chromu i żelaza na metabolizm fibroblastów i komórkowe mechanizmy obronne u myszy” wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja K. Siwickiego. W latach 2010, 2011 i 2012 ukończyła kolejne studia podyplomowe, odpowiednio na Wydziale Prawa, Prawa Kanonicznego i Administracji Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II, Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie oraz na Wydziale Agrobiotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Po ukończeniu studiów wyższych, p. Dr Sylwia Terpiłowska pracowała jako asystent naukowo-dydaktyczny w Katedrze Biologii Komórki, Instytutu Ochrony Środowiska, Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego, Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II (lata 2000-2005), samodzielny referent w Biurze Współpracy z Zagranicą KUL (lata 2005-2010), adiunkt w Pracowni Biologii Środowiska i Kierownik Pracowni Biologii Środowiska Instytutu Inżynierii Środowiska, Wydziału Zamiejscowego KUL w Stalowej Woli (lata 2010-2021) oraz w roku 2021 jako adiunkt w Instytucie Zdrowia. Od 2021 roku jest zatrudniona na stanowisku adiunkta w Katedrze Medycyny Zabiegowej z Pracownią Genetyki Medycznej w Instytucie Nauk Medycznych, Collegium Medicum Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach.

Pani Dr Sylwia Terpiłowska odbyła też kilka 1-3 miesięcznych staży badawczych w ośrodkach polskich, tj. w Katedrze Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (2012 i 2014 rok), w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky Wydziału Chemii i w Centrum Metod Separacyjnych i Bioanalitycznych BioSep Interdyscyplinarnego Centrum Nowoczesnych Technologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (2019, 2021 i 2023 rok) oraz w Zakładzie Fizyki Doświadczalnej Układów Złożonych Oddziału Badań Interdyscyplinarnych Instytutu Fizyki Jądrowej PAN w Krakowie (2020 rok).

II. Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe p. Dr Sylwii Terpiłowskiej, będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, stanowi cykl sześciu oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w latach 2017-2023. We wszystkich tych artykułach p. Dr Sylwia Terpiłowska jest pierwszym i

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii

i Obrazowania Komórki

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: 12 664 53 37

fax: 12 664 50 99



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

korespondencyjnym autorem i we wszystkich autorem koncepcji prac. Co warto podkreślić, cztery z sześciu wymienionych prac to prace dwuautorskie, opublikowane wspólnie z prof. dr hab. Andrzejem K. Siwickim, wcześniejszym Promotorem pracy doktorskiej p. Dr Sylwii Terpiłowskiej i we wszystkich tych pracach rola współautora, Prof. Siwickiego, polegała na analizie i interpretacji wyników oraz akceptacji ostatecznej wersji ostatecznej manuskryptu. Natomiast, w dwóch wieloautorskich pracach z roku 2023, współautorzy prac partycypowali również w wykonaniu niektórych badań, tj. obrazowaniu komórek przy użyciu spektroskopii w podczerwieni FT-IR, Ramana, analizach metodą ICP-MS czy obrazowaniu komórek w SEM. Nie umniejsza to jednak wiodącej roli p. Dr. Sylwii Terpiłowskiej we wszystkich ww. pracach naukowych.

Wiodącym tematem ww. prac są badania wybranych pierwiastków przejściowych na poziomie komórkowym. Pani Dr Terpiłowska skupiła się w tych badaniach na efektach cytotoksycznych związków chromu, żelaza, niklu i molibdenu, a także potencjalnych oddziaływaniach chromu z pozostałymi badanymi pierwiastkami. Jak sama podkreśla, oddziaływania chromu z pozostałymi pierwiastkami i związane z nimi efekty komórkowe były pierwszymi doniesieniami w literaturze naukowej, co utrudniało polemikę z wynikami innych autorów. W opinii Recenzentki, badania te jednak były kluczowe, aby zwrócić uwagę środowiska naukowego na rolę chromu, częstego suplementu różnych diet, w nasilaniu cytotoksyczności żelaza, ale zarazem ochronne przed toksycznym działaniem niklu czy molibdenu. Ponadto, należy podkreślić badania porównawcze przeprowadzone dla linii klonalnej A31 mysich fibroblastów zarodkowych BALB/3T3 oraz ludzkich komórek raka wątrobowokomórkowego HepG2, czy też linii klonalnej mysich fibroblastów L929, linii ludzkich enterocytów jelita cienkiego Caco-2 i komórek linii HepG2, które pozwalają, choć z dużą ostrożnością, wyciągać pewne wnioski dotyczące cytotoksyczności ww. pierwiastków w komórkach nowotworowych. Może mieć to znaczenie dla wykorzystania ww. pierwiastków w suplementacji diety lub wzbogacania w nie materiałów implantacyjnych w terapiach antynowotworowych, choć tym aspektem nie poświęcono wiele uwagi w Autoreferacie.

Autorka wykazała m.in. że w testach redukcji MTT i NRU znacznie wrażliwsza na działanie chromu(III) była linia HepG2. Podobnie, linia HepG2 była bardziej wrażliwa na działanie żelaza(III) niż linia 3T3 (praca 4.2). Autorka postawiła hipotezę, że mitochondria komórek HepG2 są bardziej wrażliwe na toksyczne działanie żelaza(III) i potwierdziła ją w pracy 4.3, w której wykazała znacznie większe spadki potencjału mitochondrialnego w komórkach HepG2 pod wpływem chlorku żelaza w zakresie stężeń 400-1000 uM. Co ciekawe jednak, błona komórkowa komórek 3T3 była wrażliwsza na działanie chlorku żelaza w teście LDH (praca 4.3), a także komórki 3T3 były wrażliwsze na jego działanie genotoksyczne (praca 4.2). Dalej, linia HepG2 była wrażliwsza na działanie chlorku niklu w teście redukcji MTT i NRU

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii

i Obrazowania Komórki

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: 12 664 53 37

fax: 12 664 50 99



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

(praca 4.2), ale genotoksyczne działanie chlorku niklu było większe w komórkach 3T3 (praca 4.2). Również, linia komórek 3T3 była wrażliwsza na działanie trójtlenku molibdenu w teście NRU (praca 4.2). Wreszcie, w pracy 4.6, najniższą absorpcję chromu wykazano w komórkach Caco-2, najwyższą absorpcję żelaza i niklu w komórkach HepG2, a kobaltu w komórkach L929 i HepG2. W opinii Recenzentki, powyższe badania porównawcze mają po pierwsze zastosowanie praktyczne, gdyż zastosowane linie komórkowe są rekomendowane do standardowych testów cytotoksyczności, natomiast przedstawione przez Autorkę różnice w odpowiedzi tych komórek na badane związki sugerują konieczność większej uwagi badaczy na wybór modelu komórkowego w zależności od zakresu badań weryfikacyjnych *in vitro* substancji czy materiałów bioaktywnych. Sugerują też wiele niepoznanych dotąd mechanizmów odpowiedzi komórek na badane związki w zależności od gatunku, z którego pobrano komórki (np. mysie vs. ludzkie), etapu rozwoju organizmu, na którym pobierano komórki (np. zarodkowe vs. dorosłych osobników) czy też rodzaju tkanki z której zostały pobrane (np. hepatocyty vs. enterocyty vs. fibroblasty tkanki podskórnej). Można więc sądzić, że badania porównawcze zapoczątkowane przez Autorkę będą podstawą dalszych prac tak Autorki jak i innych badaczy. Szkoda jedynie, że tym jakże ważnym aspektem swojej pracy, Autorka poświęciła również niewiele uwagi w swoim Autoreferacie.

Co równie ważne, w pracach 4.2, 4.3, 4.4 Dr Sylwia Terpiłowska bardzo szeroko przeanalizowała wpływ chlorków chromu, żelaza, niklu oraz trójtlenku molibdenu w zakresach stężeń od 100-1400 uM na takie parametry komórkowe jak: cytotoksyczność (testy MTT, LDH i NRU), genotoksyczność (testy kometowy i mikrojądrowy), mutagenność testem Ames'a, cykl komórkowy, potencjał mitochondrialny, stężenie rodników tlenowych i dialdehydu malonowego oraz aktywność enzymów układu antyoksydacyjnego, tj. dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i peroksydazy glutationowej. Prace te stanowią więc obszernie źródło informacji dotyczącej roli ww. pierwiastków i ich związków w podstawowych funkcjach życiowych wybranych do badań komórek modelowych. Istotnym uzupełnieniem ww. cyklu prac było zbadanie, w pracy 4.1, aktywności przeciwwirusowej chlorków chromu i żelaza w zakresie stężeń 100-1200 uM w liniach HepG2 (wirus HSV-1) i linii BT wyprowadzonej z tkanki małżowiny usznej bydłęcych noworodków (wirus biegunki bydła BVDV). Wykazano, że chlorki chromu i żelaza użyte zarówno osobno, jak i zastosowane w różnych kombinacjach, hamują replikację wirusów DNA i RNA. Biorąc pod uwagę jednak wykazane przez Autorkę efekty cytotoksyczne tych i pozostałych badanych związków, cennym byłoby porównanie pozytywnych i negatywnych skutków zbadanych związków w modelach komórkowych.

Na szczególną uwagę zasługują też dwie ostatnie prace Dr Sylwii Terpiłowskiej, obie opublikowane w 2023 roku, gdzie zastosowano spektroskopię Ramana i FT-IR do zobrazowania efektów chromu, żelaza,

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii

i Obrazowania Komórki

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: 12 664 53 37

fax: 12 664 50 99



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

kobaltu, molibdenu i niklu w komórkach HepG2 (praca 4.5), a także porównano, metodą ICP-MS oraz obserwacjami w SEM, wchłanianie związków chromu, żelaza, niklu, molibdenu, kobaltu oraz sodu, potasu, wapnia i magnezu w komórkach HepG2, L929 i Caco-2 i ich efekty na zmiany morfologiczne komórek i inicjację śmierci komórkowej (praca 4.6).

Wykazano m.in., że wraz ze wzrostem stężenia badanych związków metali, wzrastały proporcje lipidów do białka, przy czym głównymi składnikami frakcji lipidowej były pochodne kwasu oleinowego. Wykazano również aktywację apoptozy indukowanej retikulum endoplazmatycznym dla badanych związków, a w przypadku związków niklu, zarówno wewnątrz- jak i zewnątrz-pochodnych szlaków apoptotycznych. Ponadto, metodą ICP-MS potwierdzono nie tylko transport badanych związków do komórek, ale również określono poziomy wchłaniania badanych metali do wybranych komórek, choć potencjalne mechanizmy zaobserwowanych różnic w zależności od zastosowanej linii komórkowej nie były szeroko dyskutowane ani w oryginalnej pracy ani w Autoreferacie. Wniosłoby to z pewnością szereg nowych wskazówek dotyczących dalszego rozwoju tej tematyki badawczej. Podsumowując, nie mam wątpliwości co do istotnego wkładu w rozwój dyscypliny nauki biologiczne osiągnięcia naukowego p. Dr Sylwii Terpiłowskiej. Przedstawiony cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, z wyraznie wiodącym i udokumentowanym wkładem Habilitantki, stanowi rzetelne i, w licznych poruszonych aspektach badawczych czy zestawieniach, nowatorskie źródło informacji naukowej, która może być solidną podstawą do wielu dalszych badań w tej dziedzinie badawczej. Tym samym, moje uwagi krytyczne poruszone w Recenzji, nie umniejszają wartości osiągnięcia naukowego p. Dr Sylwii Terpiłowskiej, a mają na celu jedynie zwrócić Autorce uwagę na ich szersze znaczenie i możliwość ich wykorzystania, zarówno pod względem praktycznym jak i poznawczym, w aktualnych badaniach naukowych.

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii

i Obrazowania Komórki

III. Ocena aktywności naukowej i dydaktycznej

Po ukończeniu studiów w 2000 r. Dr Terpiłowska pracowała w kilku polskich ośrodkach badawczych i badawczo-dydaktycznych oraz współpracowała lub nadal współpracuje z kilkoma polskimi ośrodkami/grupami naukowymi, dzięki którym wciąż rozwija swoje badania i zainteresowania badawcze, co jest solidnie udokumentowane w jej dorobku naukowym. Poza wiodącym, w Jej osiągnięciu, tematem badawczym dotyczącym efektów komórkowych indywidualnych pierwiastków jak i ich kombinacji, Dr Terpiłowska poszerzyła swoje doświadczenia badawcze również o takie aspekty badawcze, jak cyto- i genotoksyczność pranobeksu inozyny (we współpracy z Katedrą Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego), stosowanego jako lek

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: 12 664 53 37

fax: 12 664 50 99



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

przeciwwirusowy i immunostymulujący w zakażeniach wirusem opryszczki zwykłej (HSV) i innych infekcjach wirusowych, a także w niektórych chorobach wynikających z reakcji autoimmunologicznych; właściwości biologiczne biomateriałów opartych na matrycach węglowych wzbogaconych w jony srebra (we współpracy z Politechniką Świętokrzyską, Politechniką Warszawską oraz Siecią Badawczą Łukasiewicz-Łódzkim Instytutem Technologicznym); opracowaniem nowych biomateriałów do trójwymiarowych hodowli komórek pierwotnych nowotworu trzustki (we współpracy z Siecią Badawczą Łukasiewicz-Łódzkim Instytutem Technologicznym); genotoksycznością biomimetycznych rusztowań kostno-chrzęstnych na bazie kurdlanu (we współpracy z Katedrą Biochemii i Biotechnologii Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Medycznego w Lublinie); analizą stężenia kaspaz oraz wybranych białek pro- i antyapoptotycznych u pacjentów z uszkodzeniem mózgu oraz wpływem osi mózg-jelita na parametry pacjentów hospitalizowanych na oddziałach intensywnej terapii (we współpracy z I Kliniką Anestezjologii i Intensywnej Terapii SPSK4 Uniwersytetu Medycznego w Lublinie); oznaczaniem wybranych kaspaz, czynników z rodziny TNF, HSP, interleukin i innych w osoczu krwi pacjentów dializowanych (we współpracy z prof. dr hab. n. med. Andrzej Jaroszyńskim z Katedry Chorób Wewnętrznych i Medycyny Rodzinnej, Collegium Medicum Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach). Na uwagę zasługuje też kilka krótkich staży szkoleniowych odbytych w ośrodkach zagranicznych, głównie w ramach programu Erasmus, w latach 2006-2011. Pani Dr. Sylwia Terpiłowska była również kierownikiem kilku projektów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego przeznaczonych na działalność statutową jednostki i tzw. badania własne (lata 2012-2018); wykonawcą w projekcie POIG w 2014 roku, kierownikiem dwóch projektów badawczych finansowanych z subwencji KUL w 2019 roku, wykonawcą jednego projektu badawczego finansowanego z subwencji Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (lata 2019-2021), a obecnie kierownikiem projektu finansowanego z subwencji przyznanej Uniwersytetowi Jana Kochanowskiego w Kielcach. Ubiega się również o finansowanie projektu badawczego w ramach programu OPUS NCN, dotyczącego trójwymiarowych hodowli komórek pierwotnych raka trzustki oraz o finansowanie Zespołu Badawczego ze środków Funduszu Polskiej Nauki, Wirtualny Instytut Badawczy, pracującego nad opracowaniem innowacyjnego materiału kompozytowego do diagnostyki i leczenia nowotworów skóry.

Jeśli chodzi o aktywność dydaktyczną, p. Dr Terpiłowska pełniła funkcję promotora pomocniczego w pracy doktorskiej mgr Katarzyny Czarnek na Wydziale Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (lata 2018-2019), a także prowadzi zajęcia dydaktyczne na Uniwersytecie Jana Kochanowskiego w Kielcach z zakresu cytofizjologii, patofizjologii, hemostazy i trombozy, podstaw biologii komórki oraz badań *in vitro* w kosmetyce. Opracowała również szereg autorskich programów

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii

i Obrazowania Komórki

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: 12 664 53 37

fax: 12 664 50 99



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

nauczania dla studentów kierunku Inżynieria Środowiska w Katolickim Uniwersytecie Lubelskim Jana Pawła II. Wypromowała również 48 prac inżynierskich w latach 2012-2021. Jest ponadto współautorką dwóch podręczników dla studentów dotyczących biologii, ekologii i mikrobiologii. Biorąc pod uwagę całość dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego, wystąpienia na zagranicznych i polskich konferencjach naukowych, udział w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych, członkostwo w komitetach redakcyjnych czasopism, złożone recenzje w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, a także udział w konsorcjach i sieciach badawczych stwierdzam, że Dr Sylwia Terpiłowska wykazała się wysoką aktywnością naukową w czasie swojej dotychczasowej pracy naukowej i tym samym spełnia warunek wskazany w Art.219 ust.1 pkt. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku.

Wydział Biologii

IV. *Wniosek końcowy*

Przedstawione do recenzji osiągnięcie naukowe p. Dr Sylwii Terpiłowskiej pt. „Toksyczność i mechanizmy działania wybranych pierwiastków przejściowych ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływania chromu(III) z innymi pierwiastkami - badania *in vitro*” oraz Jej aktywność naukowa spełniają, w mojej ocenie, wymagania prawne wynikające z Art.219 ust.1 pkt. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku oraz zwyczajowe dotyczące nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego i wnoszę o dopuszczenie Dr Sylwii Terpiłowskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii

i Obrazowania Komórki

Anna M. Osyczka

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: 12 664 53 37

fax: 12 664 50 99