



## Recenzja rozprawy doktorskiej

pt. „Modelowanie odpowiedzi komórkowej na małe dawki promieniowania jonizującego” autorstwa Pani mgr Joanny Reszczyńskiej

Recenzowana rozprawa doktorska pt. „Modelowanie odpowiedzi komórkowej na małe dawki promieniowania jonizującego” wykonana została przez Panią mgr Joannę Reszczyńską w Narodowym Centrum Badań Jądrowych, pod kierunkiem prof. dr. hab. Ludwika Dobrzyńskiego jako promotora oraz dr. inż. Krzysztofa Fornalskiego jako promotora pomocniczego.

Zagadnienie małych dawek promieniowania jonizującego wciąż nie jest dostatecznie dobrze poznane i wymaga wielu różnorodnych badań, aby móc określić istotność ich wpływ na organizmy żywe. Skutki oddziaływania promieniowania jonizującego z materią żywą można rozpatrywać w aspekcie pozytywnym jak i negatywnym. W aspekcie radioterapii będziemy określać te skutki jako pozytywne. Natomiast w aspekcie ekspozycji organizmów żywych na promieniowanie jonizujące jako negatywne. Jak wiadomo, promieniowanie jonizujące prowadzi do uszkodzeń materiału genetycznego czego skutkiem mogą być mutacje prowadzące do powstawania procesów nowotworowych czy śmierci komórek. Brak jednoznacznych wyników badań w zakresie niskich dawek, niewątpliwie był inspiracją dla doktorantki, która podjęła się zadania oceny odpowiedzi komórkowej na działanie promieniowania jonizującego w zakresie niskich dawek. Innym, równie ważnym zagadnieniem jest określenie wartości dawki progowej, o czym też pamiętała doktorantka w swoich badaniach. W literaturze spotyka się wiele opracowań poświęconych tematyce niskich dawek promieniowania jonizującego. Niektóre wyniki badań pokazują brak negatywnych skutków działania promieniowania jonizującego w zakresie niskich dawek – znane zjawisko Hormezy radiacyjnej, a inne wręcz przeciwnie. Dlatego też, Pani mgr Joanna Reszczyńska podjęła się badań, których wyniki



w mogłyby pozwolić na głębsze poznanie zagadnienia niskich dawek promieniowania jonizującego w oddziaływaniu z materią żywą.

Pani mgr Joanna Reszczyńska zaplanowała swoje badania w trzech obszarach: eksperymentalnym, studiów literaturowych oraz modelowania.

Strona | 2

Recenzowana rozprawa w formie monografii została oparta o osiem publikacji, w których autorka jest współautorem. W dwóch z nich jest pierwszym autorem. Publikacje ukazały się w recenzowanych czasopismach z listy JCR. Rozprawa została opisana na 252 stronach maszynopisu, posiada streszczenie, 6 rozdziałów merytorycznych, podsumowanie, spis tabel, spis rysunków, bibliografię zawierającą ponad 370 pozycji oraz 12 uzupełnień. W uzupełnieniach autorka zawarła niezbędne informacje dotyczące przepisów ochrony radiologicznej, teorii z zakresu oddziaływania fotonów z materią, definicje podstawowych pojęć i wielkości fizycznych z zakresu radiologii, informacje dotyczące prowadzonego eksperymentu, wyniki testów, kod źródłowy modelu LTC oraz raport z pomiarów dozymetrycznych. Tekst rozprawy ilustrowany jest kolorowymi rysunkami, wykresami oraz tabelami. Zabrakło mi natomiast, zwykle bardzo przydatnego dla czytelnika, wykazu skrótów i nazw używanych w tekście. Zwłaszcza, że znajdujemy wiele powtórzeń skrótów, które wyjaśnione były w różnych miejscach tekstu.

Niestety, rozprawa nie zawiera streszczenia w języku angielskim jak zaleca zapis pkt. 6 w Art. 13 Ustawy z dn. 14.03.2013 r. (DU 2017 poz. 1789 tekst jednolity). W rozprawie nie określono również jednoznacznej tezy a ograniczono się jedynie do podania celów w opisie problemu badawczego. Mam jednak nadzieję, że **podczas obrony doktorantka przedstawi tezę, skoro ma jej bronić oraz dołączy abstrakt w języku angielskim.**

Pierwszy rozdział rozprawy – *Wstęp* – wprowadza czytelnika do zagadnienia, opisuje cele i motywację podjęcia się pracy. W rozdziale tym autorka zamieszcza przewodnik po rozdziałach rozprawy oraz wykaz ośmiu publikacji jej współautorstwa.

Drugi rozdział – *Ryzyko radiacyjne związane z ekspozycją na małe dawki promieniowania jonizującego* – poświęcony jest opisowi zagadnień związanych z ochroną radiologiczną, ryzykiem i jego szacowaniem, wyjaśnieniem co należy rozumieć przez małe dawki promieniowania jonizującego, wyjaśnieniu zjawiska hormezy radiacyjnej. Rozdział kończy się zawartym w podsumowaniu cytatem



słów prof. Petera Alexandra „*zamiast napromieniać tysiące myszy niskimi dawkami i wyciągać niepewne wnioski z niejednoznacznych wyników - należy bardzo dobrze poznać mechanizmy komórkowe odpowiedzi na dawki promieniowania jonizującego, które wywołują wyraźne skutki*”, który zapewne był inspiracją do podjęcia prac w zakresie modelowania, co przedstawiono w Rozdziale 6 niniejszej rozprawy.

Trzeci rozdział – *Oddziaływanie promieniowania na organizm człowieka* - W rozdziale tym autorka zawarła podstawy fizyczne oddziaływania promieniowania jonizującego z materią żywą. Wytłumaczyła w nim na czym polega jonizacja bezpośrednia i pośrednia oraz z jakiego typu uszkodzeniami DNA mamy do czynienia w wyniku oddziaływania z nim promieniowania jonizującego. W rozdziale tym czytelnik przeczyta też o procesach naprawy DNA oraz dowie się na czym polega proces kancerogenezy.

Zadaniem tych trzech pierwszych rozdziałów było wprowadzenie czytelnika rozprawy w tematykę badań i uzasadnienie celowości ich pojęcia. Kolejne rozdziały rozprawy, stanowiące jej najważniejszą część, to rozdziały czwarty, piąty i szósty prezentujące wyniki badań i ich analizę.

Rozdział czwarty – *Indywidualna wrażliwość i podatność organizmu oraz zjawisko nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jonizującego* – prezentuje wyniki badań związanych z przeprowadzonym eksperymentem na limfocytach pochodzących z krwi ochotników zdrowych osób, sześciu pracowników Narodowego Centrum Badań Jądrowych w Świerku. Badania zostały zaplanowane zarówno od strony merytorycznej jak i ideologicznej przez doktorantkę, o czym świadczą załączone dokumenty (m in. wzór ankiety, formularz świadomej zgody na uczestnictwo w badaniach itd.) w dodatku do rozprawy. Rozdział rozpoczyna się wprowadzeniem do zagadnienia wrażliwości, nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jonizującego, przedstawia opis matematyczny i biologiczny tych zjawisk. W dalszej części autorka bardzo starannie opisuje metodologię badań oraz przedstawia ich wyniki. Zgadzam się, że wyniki badań mogą stanowić pewien zarys trendu zjawiska, ale jak słusznie autorka rozprawy pisze, że po konsultacji z dr. Nicolasem Forayem oraz prof. Dorotą Słoniną, przyjęcie tak małej grupy badawczej nie pozwala na przedstawienie statystycznie wiarygodnych wyników. **Zatem powstaje pytanie o zasadność całego eksperymentu.** Niemniej jednak,



traktując przedstawione dane jako te, które mają wskazać ewentualne trendy, można zaobserwować występowanie zależności odpowiedzi napromienianych komórek od fazy cyklu komórkowego. Niestety, nie jest to zbyt odkrywcze stwierdzenie, albowiem zjawisko to dobrze jest znane w środowisku radiobiologów. W podsumowaniu rozdziału autorka ponownie stwierdza, że przeprowadzenie badań na większej populacji pozwoliłoby na jednoznaczne sformułowanie wniosków. Trudno jest z tym stwierdzeniem się nie zgodzić. Ponadto, w doświadczeniu nie przewidziano badań dla grupy kontrolnej.

Rozdział piąty – *Badania epidemiologiczne związane z ryzykiem radonowym* – należy do typu rozdziałów teoretycznych, powstałych na bazie studiów literaturowych. Autorka zwraca uwagę na istotę problemu wpływu stężenia radonu występującego w środowisku, na zapadalność na choroby nowotworowe płuc. W tym celu, doktorantka przeanalizowała 32 badania kliniczno-kontrolne i 2 badania ekologiczne oraz wykonała analizę danych zgromadzonych w rejestrach państwowych USA. W rozdziale tym opisała również fizyczne aspekty występowania radonu oraz przedstawiła obowiązujące w Ochronie Radiologicznej regulacje prawne. Należy podkreślić, że podjęcie tak żmudnej pracy studyjnej wymagało od pani mgr Joanny Reszczyńskiej wielkiej determinacji i z podziwem odnoszę się do jej pracy. Zastosowanie analizy korelacyjnej wskazało na negatywną korelację pomiędzy stężeniem radonu a zapadalnością na choroby nowotworowe płuc. Wnioskowanie bayesowskie wskazało na prawdopodobną hipotezę braku tej zależności. Rzetelna analiza pokazała umiejętności doktorantki w stosowaniu metod analitycznych wskazując na jej dobrze opanowany warsztat pracy. Autorka rozprawy wykazała, że w obszarze małych dawek równoważnych na płuca poniżej 150 mSv/rok pochodzących od wdychanego radonu nie obserwuje się znaczącej statystycznie zmiany ryzyka nowotworowego dla płuc. Wyniki zaprezentowane w tym rozdziale wskazują też na brak jednoznaczności zależności dawka-efekt w kontekście choroby nowotworowej dla małych dawek.

Rozdział szósty – *Modelowanie biofizyczne transformacji nowotworowej* – to drugi rozdział typu teoretycznego. Dotyczy on numerycznego i analitycznego modelowania odpowiedzi komórek na promieniowanie jonizujące. Doktorantka zaprezentowała istniejące modele transformacji



komórkowych takie jak: model wieloetapowy Armitage'a-Doll'a, model dwuetapowy Armitage'a-Doll'a, uogólnione modele Moolgavkar'a-Vanzon'a-Knudson'a (MVK), model WAM (Whack-a-mole) oraz model Gompertzowskiego rozrostu. Do najciekawszych opracowań należy model LTC (Lesion To Cancer), który powstał przy współdziałaniu doktorantki w grupie kierowanej przez promotora rozprawy prof. Ludwika Dobrzyńskiego. Matematyczny opis zachodzących zjawisk transformacji komórkowych wymagało od doktorantki dogłębnego ich zrozumienia pozwalając tym samym na zastosowanie języka matematyki, podstawowego narzędzia pracy każdego fizyka. Zastosowanie zjawiska perlokacji w opisie procesu rozrostu guza stanowi bardzo trafne i ciekawe podejście do tego zagadnienia. I tu znowu, podobnie jak w rozdziale piątym, należy podkreślić warsztat pracy doktorantki. Niewątpliwie jej udział w pracach zespołu promotora pozwolił na swoiste osiągnięcie w tym zakresie. Doktorantka wykazała, że zastosowanie modelowania biofizycznego może przyczynić się do oceny wiarygodności stawianych hipotez z zakresu wpływu promieniowania jonizującego na organizmy żywe.

Problem określenia występowania zjawiska Hormezy czy określenia dawek progowych wciąż nie jest jednoznacznie rozwiązany i z tego powodu prowadzenie badań w tym obszarze jest absolutnie nadal konieczne. Zagadnienie małych dawek promieniowania jonizującego od wielu lat jest przedmiotem dyskusji środowiska naukowego i z tego względu należy zwrócić uwagę na złożoność podjętej tematyki tej rozprawy.

Podczas lektury rozprawy nasunęły mi się pewne wątpliwości, do których należą:

1. Czy uprawnieni jesteśmy do ogólnego stwierdzenia, że materiał biologiczny jest złożonym polimerem? (str. 21)
2. Wątpliwość budzi nagminne stosowanie określenia „ilość” w sytuacjach, gdy chodzi o rzeczowniki policzalne np. „*ilość rodników, ilość uszkodzeń, ilość punktów*”.
3. Stosowanie różnych jednostek dla pojęcia dawki. Czym innym jest dawka pochłonięta, czym innym równoważnik dawki a czym innym moc dawki. Autorka wielokrotnie stosuje pojęcie dawki bez





szczegółowego określenia, podając wymiennie jednostki mGy, mSv, mSv/rok. (str.: 1 „*małe dawki ...poniżej 100-200 mGy*”; „*ponieważ małe dawki ... 2-100 mSv*”, str. 8 „*stosunkowo dużych dawek powyżej 500 mGy*”; „*zaleca się wykorzystanie dwóch krzywych...dla dawek powyżej 100 mSv*”, str 11 „*Małe dawki i małe moce dawek zostały zdefiniowane...poniżej 200 mSv oraz 0,1 mGy/min*” itd.)

4. Sformułowanie „*promieniowanie jonizujące posiada zdolność do depozycji energii*” – str. 39. Wydaje mi się, że w wyniku oddziaływania promieniowania jonizującego z materią następuje przekaz energii.
5. Określenie – „*całkowita szerokość napromienianej krwi nie przekraczała 0,5 cm ...pojemnik wypełniono wodą, tak aby nie przekraczała wysokości krwi*” – str. 50. Proszę wyjaśnić co to jest szerokość a co wysokość krwi. Czy chodzi o pojedynczą krwinkę? Jeśli tak, to coś z wymiarami jest nie tak.
6. Opis Tabeli 4.1 na str. 51 mówi o dawce oszacowanej a tabela zawiera kolumnę z dawką oczekiwaną. Czy to jest to samo? W tabeli podano wartości dla dawki 1500 mGy choć w tekście powyżej mówi się o zakresie do 1000 mGy.
7. Moment kodowania próbek krwi pochodzących od dawców. – str. 56. Dlaczego próbki kodowano dopiero po napromienianiu a nie przed? Czy to oznacza, że wiadomo było czyją krew się bada?
8. Liczba 1000 komórek – str. 56 jest to wartość łączna dla 3 próbek?
9. Proszę wyjaśnić zdanie „*Krew pobrano bezpośrednio od 6 pacjentów (w fazie G<sub>0</sub>) oraz hodowano przez 70,5 godz. (w fazie G<sub>2</sub>) umieszczone zostały w Uzupełnieniu 6.*”. – str. 56. Skąd wiadomo było, że pobierając krew od pacjentów komórki były w fazie G<sub>0</sub> i jak to jest możliwe, że hodowla odbywała się, gdy komórki były w fazie G<sub>2</sub> a potem zostały umieszczone w Uzupełnieniu 6. Tzn. gdzie umieszczone był te komórki?
10. Rysunek 4.10 str. 57 przedstawia wyniki z zakresu 0 – 500 mGy. Co z wynikami dla 1000 mGy i 1500 mGy? Podobnie dotyczy to Rys. 4.11 str. 58.



11. Proszę wyjaśnić zdanie „*Analiza zakresu dawek pochłoniętych 0 – 0,8 Gy różnice w nachyleniu krzywych dawka-efekt w zakresie dawek poniżej  $d_c$  i powyżej 150 mGy ( $G_2$ )* – str. 60.
12. Mnogość stosowania tych samych skrótów do różnych określeń. Np. „OR” raz znaczy Ochrona Radiologiczna a później *iloraz szans – Odds ratio*?
13. Określenie „*uromowany zarodek nowotworu*” str 147.
14. Prosiłbym o określenie wkładu autorki rozprawy w opracowanie modelu LTC.

Niestety, muszę też zwrócić również uwagę na liczne błędy edytorskie mogące świadczyć o pośpiechu przygotowania rozprawy. Z uwagi na ich mnogość nie będą tu wymienione, jednakże planując publikację tej rozprawy należałoby je usunąć. Natomiast zalecałbym wykonanie erraty i dołączenie jej do rozprawy znajdującej się w zasobach bibliotecznych.

Podsumowując, stwierdzam, że wyniki z przeprowadzonych badań oraz analiz literaturowych jak również modelowania biofizycznego potwierdzają realizację celów rozprawy. Przyczyniają się też do rozwoju badań z zakresu radiobiologii. Do najważniejszych rezultatów rozprawy niewątpliwie należy opracowanie modelu LTC dla transformacji komórkowej.

Niestety, w rozprawie, nie znalazłem ani wzmianki, ani dokumentu Komisji Bioetycznej zezwalającej na wykonanie tych badań. Mam jednak nadzieję, że takowy istnieje i zostanie przedłożony recenzentowi do wglądu. Albowiem brak takowej zgody stawia wg mnie pod dużym znakiem zapytania, czy aby nie nastąpiło złamanie prawa, a co za tym idzie, czy istnieje prawna możliwość rozpatrywania tej rozprawy w procedurze nadania stopnia doktora. W załączeniu przedstawiam wykaz aktów prawnych dotyczących podstawy ubiegania się o zgodę komisji bioetycznej.

Ponadto, mając na względzie ustawę o ochronie danych osobowych RODO, z opisanych procedur przeprowadzenia tego eksperymentu wynika, że doktorantka miała dostęp do danych wrażliwych. Czy została zatem upoważniona do przetwarzania tych danych? Proszę o wyjaśnienie tego zagadnienia.



Biorąc pod uwagę ogrom pracy, jaki został włożony przez **Panią mgr Joannę Reszczyńską** w opracowanie tej rozprawy oraz przeprowadzenie eksperymentów jak też przeprowadzenie analiz danych literaturowych wraz z ich interpretacją, jak również w modelowanie biofizyczne stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mimo uwag i wątpliwości, **może spełniać wymagania stawiane pracom doktorskim** określone w *Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* oraz w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 roku w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora pod warunkiem przedstawienia zgody Komisji Bioetycznej na wykonanie badań o których mowa w rozdziale 4 tej rozprawy oraz odpowiedniej dokumentacji w zakresie RODO.*

  
Prof. dr hab. Wojciech M. Kwiatek

Załącznik:

Dyrektywa 2001/20/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 4 kwietnia 2001 r. w sprawie zbliżania przepisów ustawowych, wykonawczych i administracyjnych Państw Członkowskich, odnoszących się do wdrożenia zasady dobrej praktyki klinicznej w prowadzeniu badań klinicznych produktów leczniczych, przeznaczonych do stosowania przez człowieka

oraz:

Rozporządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U. 99 nr 47 poz. 480)

Badania te powinny być prowadzone zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej Światowego Stowarzyszenia Lekarzy z 1964 roku, z późn. zm.