



Politechnika Wroclawska

Wydział Chemiczny

prof. dr hab. inż. Marcin Sieńczyk
Katedra Chemii Organicznej i Medycznej
ul. Łukasiewicza 2, bud. A-2, p. 424a
50-371 Wrocław
tel. 71 320 36 46
tel. 71 320 32 44

Politechnika Wroclawska
Wydział Chemiczny
Cypriana Kamila Norwida 4/6
50-373 Wrocław
tel. 71 320 24 25

Wrocław, 8 kwietnia 2025

Recenzja pracy doktorskiej mgr Honoraty Sikory zatytułowanej

*Aktywność proteolityczna enzymu ADAM 17
jako czynnika predykcyjnego rozwoju nefropatii cukrzycowej*

Wszelkie procesy zachodzące w świecie istot żywych, od tych z pozoru najmniej skomplikowanych organizmów jednokomórkowych po złożone organizmy wielokomórkowe, regulowane i kontrolowane są przez enzymy. Utrata kontroli nad mechanizmami zapewniającymi skuteczny przepływ informacji – komunikacji komórek ze środowiskiem zewnętrznym czy oddziaływań wewnątrz- i międzykomórkowych – zaburza homeostazę leżącą u podstaw procesów metabolicznych, procesów prawidłowego wzrostu i różnicowania komórek, organogenezy czy odpowiedzi immunologicznej. Dlatego też w tak zróżnicowanej sieci wzajemnych powiązań i zależności aktywność enzymów musi być ściśle kontrolowana. Ze względu na fakt, iż nie zawsze ilość enzymu koreluje z jego aktywnością, koniecznym jest posiadanie odpowiedniego narzędzia pozwalającego na jej pomiar zarówno *in vitro*, jak *in vivo*. I choć metody pozwalające na ilościową analizę danego enzymu w materiale biologicznym są względnie nieskomplikowane (ELISA, techniki blottingowe), to selektywny pomiar aktywności pojedynczego enzymu nie jest już trywialny, choćby z uwagi na obecność enzymów o zbliżonej funkcji, mechanizmie działania czy specyficzności substratowej.

Projektowanie i otrzymywanie substratów, które są selektywnie hydrolizowane przez docelowe enzymy, pozwala nie tylko na śledzenie ich aktywności, ale także umożliwia opracowanie systemów



niezbędnych do weryfikacji działania związków biologicznie aktywnych i potencjalnych terapeutyków (inhibitorów, aktywatorów czy interkalatorów oddziaływań białko-białko). Bez dostępności odpowiednich substratów rozwój wielu obszarów współczesnej nauki byłby istotnie ograniczony, włączając w to choćby wysokosprawne testy przesiewowe czy nowoczesne strategie diagnostyczne. Z drugiej strony sama różnorodność enzymów, często występujących w postaci różnych izoform charakteryzujących się odmiennymi parametrami kinetycznymi i regulatorowymi, niejednokrotnie utrudnia proces poszukiwania specyficznych i selektywnych syntetycznych substratów.

W poszukiwanie struktur nowych syntetycznych substratów enzymatycznych wpisuje się przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Honoraty Sikory, dotycząca zgłębienia wiedzy na temat wymagań proteazy ADAM 17 wobec optymalnego substratu oraz roli enzymu w rozwoju nefropatii cukrzycowej. Badania stanowiące podstawę opracowanej rozprawy zostały wykonane w Katedrze Chemii Biomedycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, a opiekę nad jej realizacją sprawowały Pani dr hab. Magdalena Wysocka, prof. UG (promotor) oraz Pani dr Natalia Gruba (promotor pomocniczy). Przedstawiona praca zrealizowana została w ramach projektu NCN OPUS 15 *Rola białek klotho i NPP1 w regulacji funkcji komórki podocytarnej*, którego kierownikiem była Pani Prof. Agnieszka Piwkowska (Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk).

Przedstawiona do recenzji praca doktorska liczy 191 stron i ma układ typowy, powszechnie przyjęty dla tego rodzaju opracowań. Rozprawa składa się z sześciu głównych części (Wprowadzenie teoretyczne, Metody, Cel pracy, Badania własne, Wyniki i dyskusja, Podsumowanie i wnioski) poprzedzonych krótkim Streszczeniem pracy w języku polskim i angielskim oraz Wykazem stosowanych skrótów (zaledwie dziewięciu – powód braku zamieszczenia w tym miejscu wszystkich stosowanych w pracy skrótów jest dla mnie niezrozumiały). Doktorantka umieściła w swojej rozprawie 18 tabel i 55 rycin. Spis cytowanej literatury obejmuje 230 pozycji w większości z ostatnich piętnastu lat. Rozprawę uzupełnia spis Dorobku naukowego Autorki, Wykaz rycin, Wykaz tabel oraz Oświadczenie Autorki, że przedłożona praca doktorska nie narusza praw autorskich, interesów prawnych i materialnych osób w rozumieniu ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (Dz.U. 2000 r. nr 80, poz. 904, z późn. zm.).

Zanim jednak przejdę do analizy poszczególnych części opracowania, pozwolę sobie na kilka uwag natury ogólnej. Rozprawa doktorska Pani Honoraty Sikory starannie opracowana pod względem



edytorskim i graficznym, co istotnie wpływa to na jej odbiór. W pracy znalazłem nieliczne potknięcia stylistyczne czy gramatyczne. Przykładowo – strony 15 czy 29 – określenie przedstawicieli rodziny białek ADAM „związkami” jest dość niefortunne; często nadużywane jest słowo „aminokwas” – przykładowo „domena bogata w reszty aminokwasowe cysteiny” na Rycinie 1 – czy słowo cysteina może mieć tutaj inne znaczenie? Podobnie jest w innych miejscach w obrębie pracy. Brak także konsekwencji w stosowanym nazewnictwie – przykładowo w odniesieniu do budowy enzymów należących do rodziny ADAM Autorka zamiennie stosuje nazwę „pro domena”, „PRO-domena” czy „pro-domena”. W pracy pojawia się także wielokrotnie stwierdzenie, że coś jest/było „syntezowane” (przykładowo strona 26 – „AREG syntezowany jest jako...” – prawidłową formą powinno być raczej AREG (czyli *amfiregulina*) syntetyzowana jest jako... . Nieco inaczej wygląda interpunkcja rozprawy – i choć nie utrudnia ona zrozumienia sensu zdań – przecinki pojawiają się i znikają w sposób całkowicie przypadkowy i nieprzewidywalny. Pragnę jednocześnie podkreślić, iż obecne w pracy potknięcia i pomyłki językowe w żaden sposób nie wpływają na jej wysoką wartość merytoryczną.

Poprzedzone krótkim streszczeniem Wprowadzenie teoretyczne zawarte zostało na 50 stronach, na których Autorka przybliży czytelnikowi podstawowe informacje dotyczące rodziny białek ADAM. Szczególną uwagę poświęciła proteazie ADAM 17 oraz roli jaką białka ADAM pełnią w patogenezie i progresji wielu chorób, m.in. chorób nowotworowych, cukrzycy, chorób układu krążenia czy układu nerwowego. W dalszej części uwaga Autorki skupia się na tytułowym enzymie ADAM 17 – jego strukturze, mechanizmach odpowiedzialnych za jego aktywację, endogennych substratach i biologicznych konsekwencjach ich procesowania, a także na skutkach utraty kontroli nad proteolityczną aktywnością ADAM 17 oraz możliwościami jego inhibicji. W drugiej części Autorka skupia się na biologicznych aspektach cukrzycy, patogenezie nefropatii cukrzycowej (metodach diagnostycznych oraz strategiach terapeutycznych) i funkcji proteaz w przebiegu choroby, a także na roli nefronów w prawidłowym funkcjonowaniu nerek. Pomijając drobne potknięcia językowe, ta część pracy stanowi logiczną całość i jest bardzo dobrze, w mojej ocenie miejscami zbyt szczegółowo, opracowana. Zabrakło mi jedynie głębszej analizy strukturalnej i funkcjonalnej ADAM 17, a miejscami także podsumowania ponad przedstawienie stanu badań w danym obszarze. Choć obecność wspomnianych elementów jest jedynie życzeniem recenzenta, to zdecydowanie brakuje w pracy wzorów strukturalnych opisanych w pracy inhibitorów ADAM 17, do których Autorka odnosi się w treści (przykładowo GW280246X, INCB3619, NCI-H23 czy NCI-H2228). Dysponując wzorami



strukturalnymi można zorientować się w wymaganiach strukturalnych związków hamujących aktywność proteazy bez konieczności poszukiwania struktur w źródłach literaturowych. W opisach Rycin 4 i 9 zabrakło informacji na temat numerów .pdb przedstawionych struktur krystalicznych, natomiast na stronie 49 Autorka miała z pewnością na myśli końcowe produkty glikacji, a nie „końcowe produkty glikolizacji” oraz kaptopri(y)l, a nie „kapropryl” (strona 51). Nie mniej jednak Wstęp teoretyczny rozprawy pozwala czytelnikowi na rozeznanie się w problemach dotyczących tematyki pracy.

Kolejny rozdział Metody zawiera opis podstaw teoretycznych wykorzystanej w części eksperymentalnej metodologii syntetycznej. Autorka przedstawia koncepcję metody *mix and split*, rodzaje stosowanych w syntezie peptydów nośników stałych, odczynników/układów sprzęgających zarówno w podejściu manualnym, jak i automatycznym czy rodzaje fluoroforów stosowanych w syntezie substratów enzymów proteolitycznych. Jest to bardzo przejrzyste opracowany fragment dysertacji, zawierający kwintesencję prowadzonych przez Autorkę prac syntetycznych. Doszukałem się jedynie kilku drobnych potknięć, wynikających najprawdopodobniej z chęci uproszczenia języka – słowo „linker” zamieniłbym na łącznik, sformułowanie „stosuje się standardowe odczynniki sprzęgające” nie definiuje, czym jest standard, trudno także zgodzić się ze stwierdzeniem Autorki, że „Substraty fluorescencyjne są najczęściej stosowane w przypadku określania aktywności egzopeptydaz”. Dość dużym uproszczeniem jest zdanie „...łańcuchy boczne reszt aminokwasowych oddziałują z kieszeniami centrum aktywnego enzymu” (strona 79) czy „Wyznaczanie parametrów kinetycznych substratów” (tytuł podrozdziału 4, strona 79), szczególnie w świetle faktu, iż Autorka wyznaczała przecież, jak sama wspomina (strona 81), parametry kinetyczne enzymu w obecności konkretnego substratu.

Cel pracy przedstawiony jest bardzo szczegółowo. Autorka przedstawia w jaki sposób zamierza poszerzyć wiedzę w zakresie wymagań strukturalnych proteazy ADAM 17 wobec optymalnego substratu typu FRET (konstrukcja bibliotek) oraz określenia aktywności ADAM 17 w materiale biologicznym (lizaty komórkowe, medium zewnątrzkomórkowe, moczu). Należy jednocześnie podkreślić, iż Pani Honorata Sikora postawiła sobie ambitne zadanie – z jednej strony dość wymagająca i czasochłonna synteza chemiczna, z drugiej badania biochemiczne. Interdyscyplinarny charakter badań jest niewątpliwą zaletą przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej. Dalsza część – Badania własne – stanowi szczegółowe rozwinięcie celów pracy. Autorka bardzo dokładnie opisała procedury



eksperymentalne, dzięki którym otrzymała dwie główne biblioteki substratów – tetrapeptydową obejmującą pozycje X_4 - X_1 oraz heptapeptydową (obejmującą pozycje X_4 - X_3'). Przeprowadzona w dalszym etapie dekonwolucja podbibliotek pozwoliła na wyselekcjonowanie substratów proteazy ADAM 17, które efektywnie hydrolizowane były przez docelowy enzym wraz z wyznaczeniem podstawowych parametrów kinetycznych (K_M , V_{max} czy k_{cat}/K_M). Uzyskane wyniki, zarówno z części syntetycznej, jak i enzymatycznej, poparte są odpowiednimi danymi eksperymentalnymi (widma MS, chromatogramy) wraz z towarzyszącą im właściwą interpretacją. Autorka przedstawiła także wyniki obejmujące analizę aktywności proteazy ADAM 17 w próbkach biologicznych. Do tej części pracy nie mam (prawie) żadnych uwag. Przedstawione opisy są na tyle szczegółowe, że nawet niekoniecznie doświadczony eksperymentator będzie w stanie powtórzyć opisane doświadczenia. Zauważyłem jednak kilka drobnych nieścisłości i braków:

- Dlaczego Autorka nie przedstawiła wykresów (wzrost absorbancji w czasie) uzyskanych dla biblioteki służącej do określenia specyficzności pozycji X_1 ? W pracy przedstawiono dość enigmatyczny wykres (rycina 35) obrazujący zależność absorbancja vs. reszta aminokwasowa w pozycji X_1 . Co określa przedstawiona na wykresie wartość absorbancji, skoro pomiar źródłowy polegał na określeniu jej zmian w czasie? Czy jest to końcowa wartość absorbancji roztworu uzyskana po określonym czasie? Ta sama uwaga dotyczy wyników uzyskanych dla pozycji X_2 - X_4 i odpowiadającym im wykresom, a także pozycji „primowanych” – jaka jest jednostka przedstawionych na wykresach wartości „przyrostu fluorescencji”?
- Jakie było źródło biblioteki o wzorze ogólnym ABZ - X_4 - X_3 - X_2 -Ala-ANB- NH_2 ?
- Z czego wynika stosowanie w ramach syntezy jednego z produktów (ANB-złoże) trzech różnych układów sprzęgających (TBTU, HBTU i HATU)?
- Opis procedury zawarty w podrozdziale 3.6 (strona 93) sugeruje (odwołanie do podrozdziału 3.5), że po wprowadzeniu reszty w pozycję X_3 wszystkie 19 podbibliotek połączono, wymieszano i ponownie podzielono na 19 porcji, co chyba nie miało miejsca, gdyż w takiej sytuacji Autorka utraciłaby informację na temat przypisania konkretnej reszty X_3 do konkretnej podbiblioteki.



- Proszę o wyjaśnienie czym podyktowany był wybór wykorzystanych w badaniach kontrolnych proteaz podczas określania selektywności działania substratu 5? Ponadto proszę o doprecyzowanie co oznacza „Eksperyment powtórzyłam trzykrotnie” (podrozdział 18, strona 118) – czy były to trzy niezależne pomiary czy jeden pomiar w trzech powtórzeniach? Jeśli były to trzy niezależne eksperymenty, to w ilu powtórzeniach wykonany był każdy z nich? Analogiczne uwagi dotyczą pozostałych fragmentów pracy (przykładowo opis pod Ryciną 35).
- Z czego wynika zmiana stężenia badanego enzymu i stężenia substratów w różnych warunkach pomiarowych?
- Opisy eksperymentalne zawarte w podrozdziałach 19.3 i 19.4 (strona 121) powinien zawierać informację ilu krotnie materiał biologiczny (medium zewnątrzkomórkowe, moczu) został zagęszczony.
- Z czego wynika zmiana substratu użytego w badaniach z moczem szczurzym (1) i ludzkim (5)?

Pragnę podkreślić, iż moje uwagi do tej części w żaden sposób nie dyskredytują ogromnego warsztatu badawczego Pani Honoraty Sikory, która wykonała ogrom ciężkiej, interdyscyplinarnej i zaawansowanej pracy eksperymentalnej. Choć w wielu przypadkach opis konkretnej procedury na pozór wydaje się prostą czynnością, to otrzymanie wyników okupione było miesiącami długiej pracy przy stole laboratoryjnym.

W kolejnym rozdziale obejmującym 34 strony (Wyniki i dyskusja) Autorka zebrała uzyskane dane eksperymentalne, przeprowadziła ich analizę i przedstawiła je w bardzo przejrzysty sposób. Na uwagę zasługują wyniki przeprowadzonej dekonwolucji, które pozwoliły na selekcję kilku substratów proteazy ADAM 17 obejmujących pozycje X_4 - X_3' . Bardzo wartościowe jest też zestawienie sekwencji znanych, zarówno syntetycznych, jak i naturalnych substratów proteazy ADAM 17 z substratem otrzymanym w ramach realizacji przedstawionych w rozprawie badań (Tabela 16). Drugim ważnym osiągnięciem było praktyczne zastosowanie otrzymanych substratów w badaniu aktywności tytułowego enzymu w materiale biologicznym, co otwiera nowe możliwości badania funkcji proteazy ADAM 17 w patogenezie i rozwoju chorób, w tym nefropatii cukrzycowej. Jest to w mojej ocenie jedno



z najważniejszych osiągnięć badań Doktorantki. Choć do tej części pracy nie mam większych uwag – Autorka wyciąga wnioski w uzyskanych danych eksperymentalnych, poddaje je krytyce i odnosi do wyników prac opublikowanych przez innych autorów – proszę jednak o odpowiedź na kilka pytań i wątpliwości, które pojawiły się podczas lektury tego fragmentu:

- Sformułowania „znacznie mniej wydajny” (strona 124) czy „znacznie niższy” (strona 128) są mało precyzyjne. Jaka dokładnie była różnica?
- Rycina 38 – z czego wynika skok jednostki na osi y o wartość 0.0015, skoro dokładność pomiarowa używanego spektrofotometru wynosi 0.001?
- Proszę o wyjaśnienie stwierdzenia (strona 131) „... dwa substraty (...) ulegały proteolizie odpowiednio w 90% i 92%”. Czego dotyczą wspomniane wartości procentowe?
- Czy Autorka pokusiła się o analizę, czym jest obserwowany na Rycinie 43C sygnał o przybliżonym czasie retencji 10 min?
- Jakie przesłanki uzasadniły wybór reszty Arg w pozycji X_3' , skoro zbliżone wyniki uzyskano dla Lys?
- Wyniki przedstawione na rycinie 47C wskazują, że największy przyrost fluorescencji (około 12, choć na osiach brak jednostek) obserwowano dla substratu **10**. Dlaczego w dalszych badaniach wykluczono ten substrat? Ponadto ujednolicenie skali na osi przyrostu fluorescencji na wszystkich wykresach na rycinie 47 zdecydowanie zwiększyłoby przejrzystość i interpretację wyników.
- Wartość stałej specyficzności uzyskana dla substratu **5** jest o rząd wielkości wyższa, a nie „niższa” od pozostałych analizowanych związków (strona 147).
- Dlaczego w badaniach nad oceną selektywności działania uwzględniono jedynie substrat **5** (a nie dodatkowo **1** i **9**), szczególnie w świetle stwierdzenia Autorki (strona 147): „Wysoka wartość stałej



specyficzności nie jest parametrem krytycznym w wyborze substratu do potencjalnego zastosowania jako marker enzymu”?

- Z opisu warunków eksperymentalnych (podrozdział 18, strona 118) wynika, że wszystkie kontrolne proteazy testowane były w buforze pomiarowym (25 mM TRIS-HCl, 2.5 μ M ZnCl₂, 0.005 % Brij-35, pH 9.0). Jest to zaskakujące, gdyż nie tylko nie są to bufor optymalne dla analizowanych enzymów, to niektóre z nich wykazują optimum swojego działania w zupełnie innych wartościach pH (choćby katepsyny wykazujące najwyższą aktywność w pH 5.5-6.5), a w środowisku o pH 9.0 niektóre z nich całkowicie pozbawione są aktywności enzymatycznej lub wykazują jedynie aktywność szczątkową. Dlatego, w przeciwieństwie do Autorki, byłbym dużo bardziej sceptyczny w interpretacji wyników uzyskanych w ocenie selektywności działania substratu **5**. Ponadto w wykonanym eksperymencie nie zaplanowano jakiegokolwiek kontroli pozytywnej (enzym kontrolny + specyficzny dla niego substrat), która jest niezbędna do jednoznacznej weryfikacji, czy badany enzym jest w ogóle aktywny (pomiar przeprowadzony w optymalnym dla niego buforze lub – jeśli to z jakiegoś powodu niezbędne – nawet w buforze, w którym badano aktywność proteazy ADAM 17). Bez wyników uzyskanych dla kontroli pozytywnych, obserwowany przez Autorkę brak hydrolizy substratu **5** przez analizowane enzymy nie pozwala ocenić selektywności jego działania. Kontynuując, dlaczego w dość bogatym panelu enzymów kontrolnych nie uwzględniono MMP-8, MMP-13 oraz ADAM 8, które, jak przytacza Autorka (strona 147), zdolne są do hydrolizy opisanych w literaturze substratów ADAM 17?

- Nie rozumiem także stwierdzenia Autorki (strona 154): „W znanej mi literaturze nie spotkałam analogicznych badań, które mogłabym przedyskutować”. Doceniam szczerść, nie mniej jednak oczekiwałbym zaproponowania jakiegokolwiek hipotezy, choćby w oparciu o przedstawione we wstępie literaturowym informacje (analogiczne stwierdzenie pojawia się także na stronie 155).

- Zgadzam się z wnioskiem Autorki (strona 154), że obserwowany wzrost fluorescencji może wynikać z niepełnego wyciszenia genu ADAM 17 przez shRNA lub z obecności innej proteazy w analizowanym materiale, natomiast nie mogę zgodzić się z równoczesnym stwierdzeniem, że wyciszenie genu kodującego proteazę ADAM 17 było efektywne. Dlaczego Autorka nie zastosowała jakiegokolwiek



alternatywnej techniki w celu potwierdzenia obecności ADAM 17 (ELISA, western blot)? Innym (aczkolwiek częściowym) rozwiązaniem byłoby dodanie do analizowanej próbki inhibitora TAPI-0.

- Wątpliwość budzi także brak w przedłożonej rozprawie potwierdzenia (jakąkolwiek alternatywną metodą) obecności proteazy ADAM 17 w próbkach biologicznych (płyn pochodowlany, mocz – w tym miejscu zabrakło także informacji dotyczącej stopnia homologii białka ADAM 17 szczura i człowieka). Uzyskane wyniki wskazują tak naprawdę na obecność jakiegoś enzymu proteolitycznego, który zdolny jest do hydrolizy substratu **5**. Które z uzyskanych wyników pozwalają Autorce jednoznacznie stwierdzić, że to bezsprzecznie wynik działania ADAM 17? Tym bardziej, że stosowany inhibitor TAPI-0 hamuje także aktywność żelatynaz i kolagenaz (vide wnioski zamieszczone na stronie 155).

- Przeprowadzone przez Doktorantkę mapowanie substratowe proteazy ADAM 17 wykonano w sekwencji $X_1 \rightarrow X_4 \rightarrow X_3 \rightarrow X_2$. Czy według Autorki analogiczne mapowanie w sekwencji $X_1 \rightarrow X_4$ doprowadziłoby do analogicznych rezultatów? Jakie są zalety wykorzystanego przez Autorkę podejścia?

Pracę kończy rozdział poświęcony krótkiemu podsumowaniu uzyskanych wyników – Podsumowanie i wnioski (2 strony). Poza wspomnianymi wcześniej uwagami dotyczącymi języka nie mam do tej części żadnych uwag.

Chciałbym jednocześnie podkreślić, iż powyższe uwagi mają jedynie charakter polemiczny i wynikają z ciekawości recenzenta, a występujące w pracy błędy czy niedociągnięcia w żaden sposób nie wpływają na moją wysoką ocenę jej wartości naukowej. Pani Honorata Sikora jest współautorką czterech publikacji naukowych z tzw. *listy filadelfijskiej* (International Journal of Molecular Sciences, 2025; Analytical Biochemistry, 2023 i 2024; Wiadomości Chemiczne, 2022) oraz współautorką pięciu doniesień konferencyjnych o zasięgu krajowym. Pani Honorata Sikora była także stypendystką grantu NCN OPUS 15, w ramach którego realizowała swoją pracę doktorską oraz kierowała trzema projektami w ramach dotacji Badania Naukowe Służące Rozwojowi Młodych Naukowców oraz Uczestników Studiów Doktoranckich (Wydziału Chemii, Uniwersytet Gdański).



Podsumowując stwierdzam, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani Honoraty Sikory spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-3 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r., z późniejszymi zmianami. Jednocześnie wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Honoraty Sikory do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

prof. dr hab. inż. Marcin Sieńczyk