

Dr hab. n. farm. Małgorzata Grembecka
Katedra i Zakład Bromatologii
Wydział Farmaceutyczny
Gdański Uniwersytet Medyczny
80-416 Gdańsk
Al. Gen. J. Hallera 107

Gdańsk, dn. 24.11.2022 r.

Recenzja

pracy doktorskiej Pani mgr Karoliny Banyś

**pt.: „Wpływ nanogenisteiny na rozwój i przebieg procesu nowotworowego
indukowanego DMBA u szczurów”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Bromatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem Pani dr hab. n. farm. Barbary Bobrowskiej-Korczak.

Według danych Światowej Organizacji Zdrowia nowotwory są główną przyczyną śmierci na całym świecie, odpowiadając za prawie 10 milionów zgonów w 2020 r., z czego 2,26 mln stanowiły nowotwory piersi. Jednakże powstaniu części nowotworów można obecnie zapobiegać, unikając czynników ryzyka i wdrażając strategie profilaktyki oparte na dowodach. Palenie tytoniu, spożywanie alkoholu, niezdrowa dieta, brak aktywności fizycznej i zanieczyszczenie powietrza są jednymi z głównych czynników ryzyka zachorowania na raka. Składniki diety mogą w różnorodny sposób modyfikować ryzyko nowotworzenia, przy czym niektóre z nich są uważane za potencjalnie zwiększające ryzyko, podczas gdy inne mają właściwości ochronne. Na całym świecie trwają ciągle poszukiwania nowych substancji ograniczających ryzyko chorób nowotworowych oraz takich które mogłyby być stosowane w terapiach przeciwnowotworowych. Duże nadzieje wiąże się z substancjami pochodzenia naturalnego, w tym związkami polifenolowymi. Jednakże pomimo licznych doniesień i badań, mechanizmy działania tych związków nadal nie są w pełni poznane. Obciążenie nowotworami można również zmniejszyć poprzez ich wczesne wykrywanie oraz odpowiednie leczenie i opiekę nad pacjentami. Wiele nowotworów ma duże szanse na wyleczenie, jeśli

zostaną wcześniej wykryte i odpowiednio leczone. Z tego też względu uważam, że tematyka pracy doktorskiej Pani mgr K. Banyś została trafnie dobrana i ważna jest nie tylko z naukowego, ale również praktycznego punktu widzenia.

Zaplanowana przez Doktorantkę oryginalna koncepcja badań stanowi przemyślany i starannie zaplanowany zestaw eksperymentów pozwalający na szeroką analizę założonego celu badawczego, którym była ocena działania nano-, mikro- i makrogenisteiny na rozwój i przebieg procesu nowotworowego indukowanego 7,12-dimetylobenzo[a]antracem (DMBA) u szczurów. Szczegółowe hipotezy badawcze zostały sformułowane w sposób logiczny i poprawny.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Karoliny Banyś stanowi klasycznie napisaną dysertację liczącą łącznie 160 stron. Układ opracowania jest typowy, odpowiadający wymogom stawianym pracom doktorskim. Maszynopis podzielony jest na osiem podstawowych części, tj. *Część teoretyczna*, *Cel pracy*, *Część doświadczalna*, *Wyniki*, *Dyskusja*, *Wnioski*, *Piśmiennictwo* oraz *Streszczenie* (w języku polskim i angielskim). W pracy Doktorantka zamieściła 27 tabel oraz 48 rycin, które ułatwiają czytającemu poruszanie się po tekście i zrozumienie przeprowadzanych doświadczeń. Na podkreślenie zasługuje piękna szata graficzna pracy doktorskiej.

Część teoretyczną pracy podzielono na kilka podrozdziałów, dotyczących m.in. epidemiologii, charakterystyki i farmakoterapii raka piersi. Dodatkowo, Doktorantka opisała możliwości zastosowania nanotechnologii w leczeniu raka piersi oraz przykłady wykorzystania związków pochodzenia roślinnego, ze szczególnym uwzględnieniem genisteiny. Całość stanowi spójny ciąg, w którym Autorka wprowadza czytelnika w zagadnienia istotne dla opisanych później badań.

Praca nie budzi zastrzeżeń od strony planu badań, materiału, zastosowanej metodologii i doboru metod analitycznych. Metodyka pracy jest poprawna i opisana w sposób przejrzysty. Projekt badawczy stanowiący podstawę dysertacji otrzymał zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (numer dokumentu - 645/2018). Na uwagę zasługuje fakt, że badania będące przedmiotem pracy doktorskiej zostały przeprowadzone we

współpracy z Katedrą Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Zastosowana metodologia pozwoliła uzyskać wyniki, które poddano drobiazgowej analizie statystycznej przy użyciu właściwych metod statystycznych, tj. analizy wariancji (ANOVA) oraz testu post-hoc Tukeya. Za istotne uznano prawdopodobieństwo testowe na poziomie istotności $p < 0,05$, a za wysoce istotne przyjęto prawdopodobieństwo testowe na poziomie istotności $p < 0,01$.

Wyniki przedstawiono w formie opisowej, tabel i wykresów. W obszernej i umiejętnie przeprowadzonej dyskusji Doktorantka w interesujący sposób opisuje i porównuje wyniki badań własnych z tymi uzyskanymi przez innych badaczy. Po analizie badań własnych i z wykorzystaniem swojej wiedzy formułuje kolejne pytania badawcze.

Wyniki pracy pozwoliły doktorantce na sformułowanie sześciu wniosków odpowiadających założonym celom pracy. Są one sformułowane w sposób właściwy i mają poparcie w uzyskanych wcześniej wynikach. Autorka dysertacji wykazała, że w zastosowanym modelu suplementacja genisteiną działała synergistycznie z DMBA i stymulowała rozwój procesu nowotworowego u szczurów. Natomiast intensywność przebiegu procesu nowotworowego, jak również zawartość wybranych biomarkerów w materiale biologicznym zależała od wielkości cząsteczek suplementowanej genisteiny. Nanogenisteina stymulowała inicjację procesu nowotworowego, powodowała wzrost masy guzów oraz wzrost złośliwości. Makro- i mikrogenisteina stymulowały wzrost intensywności proliferacji komórek nowotworowych. Doktorantka rekomenduje prowadzenie dalszych badań w celu poznania mechanizmów działania genisteiny, co ma ogromne znaczenie dla oceny bezpieczeństwa jej stosowania.

Rozprawę zamyka *Piśmiennictwo*, obejmujące znaczącą liczbę 336(!) pozycji literaturowych, z których większość pochodzi z ostatniej dekady. Nie tylko świadczy to o aktualności bibliografii, ale również o dociekliwości Doktorantki w zakresie poszukiwania informacji na temat prowadzonych badań.

W trakcie lektury nasunęły mi się drobne uwagi, które mimo, że nie obniżają wartości merytorycznej pracy pozwolę sobie przedstawić je poniżej:

1. Tytuł pracy obejmuje jedynie nanogenisteinę, podczas gdy celem pracy jest również ocena działania mikro- i makrogenisteiny. Zdaniem recenzentki tytuł dysertacji powinien uwzględniać ten fakt.
2. W trakcie pisania obszernego dzieła dość trudno jest uniknąć literówek, podwójnych/brakujących spacji, niekonsekwentnej pisowni niektórych wyrazów (karcinogeny/kancerogeny) i można je także znaleźć w recenzowanej rozprawie.
3. Nagłówek tabel powinien znajdować się w pierwszym wierszu tabeli na każdej stronie - znacząco ułatwiłoby to zapoznavanie się z wynikami.
4. Dla oznaczenia poziomu istotności stosuje się symbol p lub też symbol α . Natomiast w jednej pracy powinno stosować się jednolitą nomenklaturę (Tabele 11-13, 22-27).
5. Na stronie 116 dysertacji jest podany niewłaściwy wzór kwasu palmitynowego.
6. Brakuje informacji kto wykonał badanie palpacyjne szczurów.

Mam też kilka pytań dotyczących metodyki pracy i wyników:

1. Na jakiej podstawie Autorka dysertacji dobrała parametry wywołania nowotworu sutka u szczurów?
2. Czy Doktorantka przeprowadziła walidację metod analitycznych zastosowanych do oceny zawartości poszczególnych markerów w płynach biologicznych szczurów?
3. Jak Doktorantka tłumaczy tak wysoki błąd standardowy średniej przedstawiony w Tabelach 16 i 21? Czy Autorka uważa, że na podstawie takich wyników można wnioskować na temat statystycznej zależności wyników?
4. Co Autorka miała na myśli pisząc na stronie 110 „Biorąc jednak pod uwagę strukturę genisteiny i jej udowodniony potencjał do nasilania proliferacji komórek nowotworowych, w szczególności w nowotworach hormonozależnych, zastosowanie redukcji wielkości cząsteczek w moim badaniu miało odwrotny wpływ i nasiliło chorobę nowotworową.”?

5. Czy Doktorantka ma jakiegokolwiek przypuszczenia co do mechanizmów działania genisteiny?

Nie mam zasadniczych uwag krytycznych do doboru metod, sposobu przeprowadzania eksperymentów czy interpretacji wyników. Dokonania badawcze Pani mgr Karoliny Banyś oceniam wysoko, zarówno jako badania wnoszące istotny wkład do naszej wiedzy odnośnie wpływu genisteiny zarówno na rozwój procesu nowotworowego, jak również na stężenia wybranych markerów w płynach biologicznych szczurów traktowanych 7,12-dimetylobenzo[a]antracenenem, a także jako otwierające nowe pola badawcze.

Wymienione w recenzji niedociągnięcia, dotyczące głównie strony edytorskiej, nie obniżają mojej wysokiej oceny całości rozprawy. Doktorantka dużym nakładem pracy uzyskała bardzo wiele cennych danych wartych opublikowania.

Podsumowując, oceniam pozytywnie zakres prac badawczych zaprezentowanych w niniejszej dysertacji, ze względu na ich charakter nie tylko poznawczy, ale również praktyczny. Rozwiązanie zadań badawczych wymagało od Doktorantki dużego zaangażowania, biegłości analitycznej, determinacji, a także dociekliwości przy interpretacji danych pomiarowych. Na szczególną uwagę zasługuje ostrożne i pełnego krytycyzmu naukowego rozumowanie, uwieńczone poprawnym, z dużą dozą samokrytycyzmu naukowego, wnioskowaniem.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Banyś pt. **„Wpływ nanogenisteiny na rozwój i przebieg procesu nowotworowego indukowanego DMBA u szczurów”** w pełni spełnia wymagania ustawowe stawiane pracom doktorskim w świetle art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie Wyższym i Nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) oraz warunków określonych w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 200 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789). **Wobec tego mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Banyś do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Banyś zawiera elementy nowości naukowej oraz jest bardzo dobrze zaplanowanym oryginalnym zagadnieniem naukowym. Wskazuje na wszechstronną wiedzę teoretyczną Doktorantki w reprezentowanej dyscyplinie naukowej, umiejętność prowadzenia prac badawczych oraz ich właściwą interpretację. Dodatkowo, Kandydatka posiada bardzo dobry dorobek naukowy, gdyż legitymuje się łącznym współczynnikiem oddziaływania IF wynoszącym 8,347. Biorąc pod uwagę wyżej wymieniony szereg czynników pozytywnie wyróżniających tę dysertację, rangę podjętej tematyki, elementy nowości naukowej, aktywność i kompetencje Doktorantki oraz znaczenie wyników dla rozwoju nauki **składam wniosek o wyróżnienie rozprawy.**