



Dr hab. Szymon Sękowski
Laboratorium Biofizyki Molekularnej
Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii
Wydział Biologii
Uniwersytet w Białymstoku
ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15-245 Białystok
e-mail: s.sekowski@uwb.edu.pl

28.08.2023

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr Dominiki Anny Komorowskiej pt.
„Ocena skuteczności pochodnych stilbenowych w uwrażliwianiu komórek raka piersi na
działanie promieniowania jonizującego”

Promotor rozprawy: Dr hab. Aleksandra Rodacka

Niniejsza praca doktorska została zrealizowana w Katedrze Biologii Nowotworów i Epigenetyki Instytutu Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego w ramach Stacjonarnych Studiów Doktoranckich Genetyki Molekularnej, Cytogenetyki i Biofizyki Medycznej. Podstawę prawną do sporządzenia niniejszej recenzji stanowi decyzja Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie Nauki Biologiczne z dnia 27 czerwca 2023 roku, powołująca mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej w postępowaniu doktorskim Pani mgr Dominiki Anny Komorowskiej.

Choroby nowotworowe stanowią jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny będąc jedną z głównych przyczyn zgonów w skali globalnej. Pomimo znacznego rozwoju metod diagnostycznych i terapeutycznych w tym radioterapii, chemioterapii, immunoterapii czy chirurgii onkologicznej, skuteczność leczenia pacjentów z chorobami nowotworowymi jest niewystarczająca a ryzyko pojawienia się wznowy nadal pozostaje bardzo wysokie. Z tego względu podejmowane są liczne badania, które z jednej strony mają na celu opracowanie nowych leków przeciwnowotworowych, z drugiej modyfikację już istniejących metod terapeutycznych w kierunku podniesienia ich skuteczności. Przykładem może być wykorzystanie różnego rodzaju radiouczulaczy w radioterapii, które mają za zadanie wzmocnienie antynowotworowej skuteczności promieniowania jonizującego. Bogatym źródłem związków wykazujących działanie fotouczulające, w tym radiouczulające, są polifenole. Stanowią one bardzo szeroką grupę molekuł pochodzenia roślinnego, do których zaliczamy zarówno związki o małej masie molowej np. kwercetyna czy genisteina jak i cząsteczki



o rozbudowanej strukturze i dużej masie jak choćby kwas taninowy. Wiele związków pochodzenia roślinnego wykazuje wspomnianą aktywność fotouczulającą w tym radiouczulającą (np. kurkumina czy resweratrol). Z tego względu polifenole stanowią źródło związków mogących znaleźć zastosowanie w celu podwyższenia wydajności radioterapii. Pomimo wielu opisanych badań związanych z wykorzystaniem polifenoli, w tym tych zaliczanych do stilbenów, jako radiouczulaczy nie wszystkie aspekty ich aktywności względem różnego typu nowotworów zostały opisane i wyjaśnione. Z tego względu konieczne są dalsze prace eksperymentalne w kierunku lepszego poznania i wyjaśnienia radiouczulającej skuteczności związków polifenolowych.

Ocena struktury i zawartości merytorycznej pracy

Tematem recenzowanej pracy doktorskiej Pani mgr Dominiki Anny Komorowskiej jest „Ocena skuteczności pochodnych stilbenowych w uwrażliwianiu komórek raka piersi na działanie promieniowania jonizującego”. Podjęty przez Autorkę temat badań jest bardzo interesujący i jednocześnie wielopłaszczyznowy z uwagi na obejmowanie tematyką zagadnień z zakresu stresu oksydacyjnego, radiobiologii, genetyki, fizyki medycznej, biologii nowotworów i onkologii.

Recenzowana rozprawa doktorska jest opracowaniem pisemnym, w skład której wchodzi również 2 publikacje anglojęzyczne opublikowane w czasopismach z listy JCR i spełnia wymogi formalne artykułu 187 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018 (Dz. U. 2018 poz. 1668).

Układ treści jest typowy dla pracy doktorskiej. Początek rozprawy stanowi spis treści, wykaz dorobku naukowego Doktorantki oraz streszczenie w j. polskim i j. angielskim. Następnie Autorka prezentuje wykaz stosowanych skrótów i zamieszcza wprowadzenie do poruszanego zagadnienia omawiając nowotwór piersi, radioterapię i radiouczulacze oraz grupę związków zaliczanych do stilbenów. Następne podrozdziały stanowią: cel pracy, materiały i metody oraz omówienie wyników. Ostatnie części pracy to podsumowanie, wnioski i literatura uzupełniająca. Rozprawę zamykają 2 publikacje wchodzące w skład dysertacji oraz oświadczenia współautorów.

Cel pracy został w pełni uzasadniony. Doktorantka w sposób dokładny opisała stosowane materiały podając również charakterystykę stosowanych komórek tj. linii MCF-7 i HCC38. W sposób wyczerpujący opisane zostały stosowane metody w tym prowadzenie hodowli, sporządzanie prób do analiz i techniki oraz parametry pomiarów. Autorka uzasadniła wybór resweratrolu, piceatannolu i piceidu jako radiouczulaczy w prowadzonych przez siebie badaniach oraz umotywowała dlaczego zastosowane zostało promieniowanie w dawkach 2Gy i 6 Gy.

Odnosząc się do uzyskanych wyników, zasadniczo można je podzielić na 2 części. Pierwszą stanowi uzupełnienie i dyskusja rezultatów uzyskanych dla linii komórkowej MCF-7 poprzedzone omówieniem dwóch publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, natomiast druga część prezentuje wyniki dla linii HCC38. W pracy Doktorantka stosowała trzy



UNIwersytet w Białymstoku

Wydział Biologii

ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15-245 Białystok
tel. 85 738 8383 • e-mail: biologia.dzianat@uwb.edu.pl • biologia.uwb.edu.pl



układy eksperymentalne: (1) komórki naświetlane promieniowaniem jonizującym, (2) komórki inkubowane ze stosowanymi związkami oraz (3) komórki inkubowane ze związkami i ekspozowane na promieniowanie jonizujące. W przypadku obu stosowanych linii komórkowych (dla wszystkich trzech układów badawczych) Pani mgr Dominika Anna Komorowska przeanalizowała szereg parametrów takich jak: przeżywalność (testem MTT), analiza poziomu apoptozy i nekrozy (znakowanie fluorescencyjne w połączeniu z cytometrią przepływową), aktywność genów apoptotycznych (test RT-PCR), poziom białek zaangażowanych w proces apoptozy (kaspaza 3, kaspaza 8, Bcl-2, Bax, p53) metodą Western-Blot, aktywność enzymów antyoksydacyjnych (CAT, SOD i GPx). Wszystkie wyniki zostały prawidłowo opisane i szczegółowo przedyskutowane w odniesieniu do istniejącej literatury z zakresu poruszanego zagadnienia. Z tego względu prezentacja wyników, ich omówienie i dyskusja nie budzą zastrzeżeń.

W skład rozprawy doktorskiej Pani mgr Dominiki Anny Komorowskiej wchodzi nie tylko wyniki opisane w tzw. sposób klasyczny (jako typowa rozprawa), ale również 2 publikacje.

Pierwszą stanowi praca przeglądowa, którą można potraktować jako swoisty wstęp merytoryczny czy też wprowadzenie do poruszanego zagadnienia. Autorka opisuje w niej naturalne radiocuczulacze, podając również takie związki, które są w fazie badań klinicznych np. kurkumina czy genisteina. Doktorantka prezentuje również bezpośredni i pośredni mechanizm działania promieniowania względem komórek nowotworowych oraz szczegółowo przedstawia aktualny stan wiedzy na temat wybranych radiocuczulaczy. Artykuł został opublikowany w czasopiśmie *International Journal of Molecular Sciences* (IF=6,208; MEiN=140; wkład procentowy Doktorantka oceniła na 50%).

Druga publikacja wchodząca w skład rozprawy prezentuje wyniki dotyczące wpływu resweratrolu, piceatannolu i piceidu na odpowiedź komórek MCF-7 raka piersi poddanych działaniu promieniowania jonizującego. Rezultaty badań zamieszczone w pracy opisano w sposób czytelny, publikacja zawiera również obszerną dyskusję wyników, które zostały porównane z efektami doświadczeń uzyskanych w innych zespołach badawczych. Druga praca podobnie jak pierwsza została opublikowana w czasopiśmie *International Journal of Molecular Sciences* (IF=6,208; MEiN=140; wkład procentowy Doktorantka oceniła na 52%).

Łączny IF prac wchodzących w skład rozprawy wynosi 12,416 natomiast suma punktów MEiN 280.

Recenzowana praca prezentuje bardzo ciekawe i interesujące wyniki zarówno pod względem poznawczym jak i potencjalnie aplikacyjnym. Głównym wnioskiem jaki został wyciągnięty na podstawie przeprowadzonej pracy eksperymentalnej jest stwierdzenie, że spośród wszystkich trzech badanych związków resweratrol posiada największe właściwości radiouwrażliwiające.

Wszystkie badania zostały zaplanowane i przeprowadzone w sposób prawidłowy. Układ treści jest spójny i logiczny. Praca przedstawia oryginalne wyniki i wnosi nową wiedzę na temat zastosowania związków stilbenowych jako radiocuczulaczy w radioterapii raka piersi. Bogaty warsztat stosowanych technik badawczych pozwolił Autorce w pełni zrealizować postawione w pracy cele. Rozprawa doktorska świadczy o wysokiej wiedzy Doktorantki oraz o umiejętności do samodzielnego planowania i prowadzenia pracy naukowej.



Pomimo bardzo dobrze przygotowanej pracy można zauważyć w niej pewne nieścisłości. W rozprawie pojawiają się drobne błędy stylistyczne i dość częste literówki.

Na stronie 14 napisano „Nowotwory łagodne rosną miejscowo, rozprężająco i nie dają żadnych przerzutów. Ponadto po usunięciu takiej zmiany nie dochodzi do remisji, dzięki czemu nowotwory łagodne są całkowicie wyleczalne”. Powinno być raczej napisane, że nie dochodzi do „wznowy” nowotworu, ponieważ „remisja” to cofnięcie objawów.

Na stronie 20 zostały przedstawione wzory strukturalne stosowanych w pracy związków bez podania odnośnika. Mam pytanie czy rysunek stanowi w takim układzie opracowanie własne? Jak pisze doktorantka na stronie 23 wszystkie związki były rozpuszczone w alkoholu etylowym. Z tego względu mam pytanie czy był uwzględniany potencjalny wpływ etanolu na przeżywalność komórek?

Na stronie 35 w podrozdziale „Przygotowanie lizatów komórkowych” nie znalazła się informacja co było czynnikiem lizującym?

Na stronie 41 Autorka pisze, że analiza poziomu białka metodą Western-Blot była wykonana po 24 godzinach inkubacji, natomiast poziom aktywności po 48 godzinach od naświetlania. Dlaczego została wprowadzona taka różnica czasowa w analizach?

Na stronie 46 na rysunku 11 zabrakło oznaczenia, który wykres to wykres „11a”, a który „11b”. Szkoda, że Autorka opisując poszczególne wyniki nie zaznaczyła w tekście, na którym rysunku znajdują się opisywane rezultaty badań, co znacznie ułatwiłoby odszukanie odpowiedniej grafiki. Na niektórych rycinach brak jest również legendy.

Wspomniane błędy i niedociągnięcia, głównie natury edytorskiej, nie wpływają w żadnym stopniu na moją bardzo pozytywną ocenę recenzowanej pracy doktorskiej.

Podsumowanie recenzji

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Dominiki Anny Komorowskiej ma układ typowy dla rozprawy doktorskiej, a w jej skład wchodzi również dwie publikacje anglojęzyczne z listy JCR. Dysertacja została przygotowana w sposób przemyślany i stanowi rzetelne opracowanie naukowe. Jednocześnie należy podkreślić, że Doktorantka posiada w swoim dorobku naukowym nie tylko publikacje, ale również 10 doniesień konferencyjnych, w trakcie studiów doktoranckich wykazywała się również działalnością organizacyjną biorąc udział w Noc Biologów, Festiwalu Nauki, Techniki i Sztuki czy współorganizacji warsztatów. Ponadto otrzymała dyplom za najlepszy poster, była Laureatką konkursu dla doktorantów i studentów organizowanego przez Polskie Towarzystwo Biofizyczne oraz pełniła funkcje opiekuna w trzech pracach magisterskich. Ponadto Pani mgr Dominika Anna Komorowska przynależy do Polskiego Towarzystwa Biofizycznego i Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych im. Marii Skłodowskiej-Curie oraz była przedstawicielką doktorantów w Wydziałowej Komisji ds. Jakości Studiów Doktoranckich.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Dominiki Anny Komorowskiej pod tytułem „Ocena skuteczności pochodnych stilbenowych w uwrażliwianiu komórek raka piersi na działanie promieniowania jonizującego” spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom



UNIWERSYTET W BIAŁYMSTOKU

Wydział Biologii

ul. K. Ciołkowskiego 1J, 15-245 Białystok
tel. 85 738 8383 • e-mail: biologia.dziekanat@uwb.edu.pl • biologia.uwb.edu.pl



na stopień naukowy „doktora” określone w ustawie - Ustawa Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018 (Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z tym wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie Nauki Biologiczne o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania doktorskiego i o nadanie Pani mgr Dominice Annie Komorowskiej stopnia naukowego „doktora”.

Dr hab. Szymon Sękowski

Sękowski Szymon

