

dr hab. n. farm. Bartosz Wielgomas, prof. uczelni

Gdańsk, 07.07.2022

**Opinia na temat rozprawy doktorskiej mgr farm. Marty Izabeli Cykowiak,  
pt.: „Modulacja ścieżki sygnałowej Nrf2-ARE przez fitozwiązki i ich  
kombinacje w komórkach raka trzustki”**

Przedłożona do recenzji rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne, została wykonana w Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Kierownikiem jednostki jak i promotorem przedmiotowej rozprawy jest dr hab. Violetta Krajka-Kuźniak, prof. UMP.

Kandydatka do stopnia doktora jest absolwentką kierunku farmacja na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Sądząc po temacie pracy magisterskiej, którą obroniła w 2017 r., pt. „Modulacja wybranych izoenzymów cytochromu P450 przez syntetyczne pochodne resweratrolu w modelu *in vitro*” można przypuszczać, że zapoznała się wówczas z ogólną metodologią badań *in vitro* i stanowiło to dobrą podstawę teoretyczną i praktyczną do podjęcia dalszej pracy naukowej. Z przedstawionego opisu wynika, że bezpośrednio po ukończeniu studiów prowadziła badania w ramach projektu kierowanego przez dr hab. Violetę Krajkę-Kuźniak a po roku, w październiku 2018 r. rozpoczęła stacjonarne studia doktoranckie.

Rozprawa ma formę wydruku na 139 stronach, z czego pierwsze 45 stron zajmuje wprowadzenie z wykazem publikacji stanowiących podstawę postępowania w sprawie o nadanie stopnia naukowego doktora, sylwetkę naukową Doktorantki oraz opis dorobku naukowego, wstęp oraz założenia i cele pracy, omówienie osiągnięć badawczych w pracach wchodzących w skład cyklu, podsumowanie i wnioski oraz piśmiennictwo i streszczenie w języku polskim i angielskim.

Pozostała część rozprawy (strony od 46 do 139) zawiera kopie artykułów stanowiących cykl publikacji oraz oświadczenia współautorów publikacji. Rozprawa doktorska przedstawiona jako

„zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych” spełnia wymagania artykułu 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z dnia 30 sierpnia 2018 r., poz. 1668, z późniejszymi zmianami). W skład zbioru wchodzi pięć artykułów opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym (trzy prace oryginalne i jedna przeglądowa; Nutrition and Cancer, Toxicology In Vitro, Cells, Antioxidants) oraz w czasopiśmie krajowym (jedna praca przeglądowa; Farmacja Współczesna). W czterech pracach Doktorantka jest pierwszą autorką a w jednej drugą.

Z załączonych do rozprawy oświadczeń współautorów wynika, że w powstaniu wszystkich publikacji wchodzących w skład rozprawy, Doktorantka miała wiodący udział. W pracach przeglądowych odpowiedzialna była za opracowanie koncepcji artykułu, przegląd literatury i przygotowanie rycin oraz wstępnej wersji manuskryptu. W pracach eksperymentalnych Pani mgr odpowiadała za przeprowadzenie doświadczeń, analizę statystyczną wyników i ich graficzne przedstawienie oraz przygotowanie wstępnych wersji manuskryptów.

Naukometryczne parametry osiągnięć Doktorantki są wysokie, gdyż sumaryczna wartość współczynnika oddziaływania (Impact Factor) publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 19,313. Całkowity dorobek Pani mgr Marty Cykowiak wyrażony współczynnikiem IF i punktacją MNiSW to odpowiednio 27,851 i 695. Ponadto, Doktorantka jest współautorką dziewięciu komunikatów konferencyjnych. Za osiągnięcia naukowe uzyskała dwukrotnie nagrody Rektora Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu a także była wyróżniana podczas konferencji młodych naukowców. Warto w końcu podkreślić, że w trakcie realizacji projektu doktorskiego odbyła roczny staż w University of Virginia, Department of Biochemistry and Molecular Genetics.

Celem rozprawy było określenie potencjału hamowania procesu nowotworzenia przez wybrane związki pochodzenia roślinnego: izotiocyjanian fenetylu, ksantohumol, indolo-3-karbinol i resweratrol. Cel ten miał zostać osiągnięty poprzez zbadanie wpływu pojedynczych substancji jak i w skojarzeniu na szlaki sygnałowe czynnika Nrf2 i w efekcie: cykl komórkowy, proces apoptozy, proliferację oraz fosforylację kinaz w komórkach raka trzustki.

Omówienie poszczególnych publikacji będących rezultatem przeprowadzonych badań, poprzedzone jest wstępem, w którym Doktorantka opisuje w sposób bardzo syntetyczny podstawy

teoretyczne kluczowych zagadnień będących przedmiotem rozprawy, uzasadniając jednocześnie potrzebę podjęcia tego tematu i wyznacza cele pracy. Jestem przekonany, że na etapie stawiania hipotez pomocą służyła Promotor pracy, prof. Violetta Krajka-Kuźniak, która posiada naukowy dorobek w tym obszarze.

Pierwsza praca przeglądowa wchodząca w skład cyklu, skupia się na przedstawieniu roli czynnika Nrf2 w chorobach występujących u człowieka ze szczególnym naciskiem na choroby nowotworowe. Przygotowanie tej pracy na wczesnym etapie projektu doktorskiego, pozwoliło Doktorantce na zapoznanie się z aktualnym stanem wiedzy i wskazać potencjalne kierunki badawcze, warte dalszej uwagi i rozwinięcia.

W drugiej publikacji Doktorantka przedstawia wyniki badań *in vitro* nad wpływem czterech substancji pochodzenia roślinnego tj. izotiocyjanianu fenetylu, ksantohumolu, indolo-3-karbinolu i resweratrolu na aktywację Nrf2 i ekspresję genów enzymów antyoksydacyjnych i detoksykujących kontrolowanych przez ten czynnik transkrypcyjny w komórkach raka trzustki pochodzących z gruczolakoraka przewodowego trzustki.

Celem trzeciej pracy było scharakteryzowanie łącznego oddziaływania ksantohumolu i izotiocyjanianu fenetylu na szlaki sygnałowe Nrf2 oraz NF- $\kappa$ B. W badaniach wykorzystano linię komórkową Panc-1. Doświadczenia wykazały, że jednoczesna ekspozycja komórek na ksantohumol i izotiocyjanian fenetylu, prowadziła do zwiększenia ekspresji genów NQO1, SOD oraz GSTP, co ciekawe ta sama kombinacja oddziaływała hamująco na NF- $\kappa$ B i na ekspresję genów kodujących białko COX-2.

W czwartej publikacji opisane są badania *in vitro* oraz *in vivo*, których celem było odpowiednio zbadanie cytotoksyczności wobec zarówno komórek nowotworowych jak i komórek prawidłowych trzustki oraz szlaków Nrf2 i NF- $\kappa$ B. Skuteczność mieszaniny ksantohumolu i izotiocyjanian fenetylu okazała się najwyższa spośród testowanych kombinacji wobec szlaku Nrf2. Z tego względu w dalszych badaniach *in vivo* z wykorzystaniem modelu mysich ksenograftów dokonano oceny wpływu dootrzewnowego podania obu związków na szybkość wzrostu guzów uzyskanych w wyniku transfekcji komórkami linii PSN-1. Jest to bardzo obiecujący rezultat, szczególnie że został zaobserwowany w modelu *in vivo*. Chciałbym przy tej okazji poprosić o krytyczną ocenę możliwości zastosowania wskazanej mieszaniny w terapii wspomagającej tradycyjne metody leczenia nowotworów trzustki.

Ostatnią pracą cyklu jest publikacja przeglądowa, podsumowująca dostępne dane na temat roli szlaku sygnałowego Nrf2 w nowotworach trzustki i wykorzystania tego szlaku jako potencjalnego celu terapeutycznego lub profilaktycznego. Doktorantka słusznie podkreśla w tejże pracy dwojaką rolę czynnika Nrf2 w zależności od etapu nowotworzenia.

Doktorantka podsumowała uzyskane przez Nią wyniki prac doświadczalnych formułując 9 wniosków, w tym końcowy, w którym stwierdza, że „kombinacja ksantohumolu z izotiocyjanianem fenetylu może być wykorzystana w profilaktyce/chemoprewencji raków trzustki”.

Spójny tematycznie cykl przeprowadzonych doświadczeń dokumentuje oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, w kompleksowym ujęciu, obejmując zarówno różne modele *in vitro* jak i *in vivo*.

Po lekturze rozprawy, bardzo dobrze przygotowanej pod względem edytorskim i merytorycznym, chciałbym poprosić Doktorantkę jedynie o pewne uzupełnienia:

1. Jakie były przesłanki do zastosowania konkretnych dawek izotiocyjanianu fenetylu i ksantohumolu w modelu mysich ksenograftów?
2. Przy założeniu, że wszystkie testowane substancje występują w produktach żywnościowych i dostarczane są do organizmu drogą pokarmową, jaką rolę może odgrywać metabolizm mikroflory jelitowej oraz efekt pierwszego przejścia w aktywności badanej grupy związków?

Podsumowując, Pani mgr Marta Cykowiak przygotowała rozprawę doktorską, w której zaprezentowała ogólną wiedzę teoretyczną, na poziomie odpowiadającym stopniu doktora. Wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych w dyscyplinie nauk farmaceutycznych stosując mnogość technik badawczych/laboratoryjnych.

**Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Marty Cykowiak spełnia, w oparciu o powyższą analizę, wymogi określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z dnia 20 lipca 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.) i wnoszę do Wysokiego Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie mgr farm. Marty Cykowiak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Jednocześnie, ze względu na wysoką wartość merytoryczną pracy wnoszę do Wysokiego Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr farm. Marty Cykowiak.

