



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Zakład Badań Biochemicznych

Ul. Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin,

Tel: +48 (91) 441 48 08 ; fax. +48 (91) 441 48 07

Kierownik: prof. dr hab. n. med. i zdr. Karolina Skonieczna-Żydecka,

Szczecin, 16.10. 2023

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Claudii Musiał

pt. „ Biologiczne implikacje wybranych metabolitów 17 β -estradiolu w regulacji mechanizmów śmierci i przeżywalności komórek ludzkiego gruczołakoraka płuc, określone na podstawie dwuwymiarowych i trójwymiarowych modeli komórkowych”

wykonanej w Katedrze i Zakładzie Chemii Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu
Medycznego

pod kierunkiem **Dr hab. Magdaleny Górskiej-Ponikowskiej, Prof. GUMed**

Zgodnie z najnowszymi szacunkami Komisji Europejskiej opublikowanymi w Europejskim Systemie Informacji o Raku 2 października 2023 roku, liczba nowych zachorowań na raka wzrosła o 2,3% w porównaniu z rokiem 2020, osiągając 2,74 miliona chorych w 2022 roku. Podobnie, liczba zgonów z powodu raka wzrosła o 2,4% w porównaniu do 2020 r. Szacuje się, że wśród czterech najczęstszych przyczyn zgonów z powodu raka w UE znajduje się rak płuc, stanowiący blisko 20%. W skali globalnej można zaobserwować podobny trend. Niemniej jednak, ta globalna pandemia pociągnęła za sobą rozległe wysiłki naukowe mające konsekwentnie na celu zmniejszenie zachorowalności i śmiertelności z powodu tego nowotworu. Liczne badania pozwoliły na osiągnięcie znaczących postępów w zakresie zrozumienia etiologii, czynników ryzyka i skuteczności leczenia. Ponadto, dokonano znaczących postępów w zakresie rozumienia różnic płciowych u chorych z nowotworami płuc, co doprowadziło do wysunięcia nowych propozycji diagnostycznych i leczniczych. W

obliczu tych faktów, wybór tematu jakiego dokonała Doktorantka jest niezwykle ważny i innowacyjny, gdyż poszukiwanie zależnych od płci, wskaźników diagnostyczno-rokowniczych to nowy, niezbadany obszar wiedzy, w którym interdyscyplinarność zespołu badaczy ma kluczowe znaczenie. Jest to również temat niezmiennie aktualny z uwagi na wskazane wyżej dane epidemiologiczne. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę wraz z zespołem są zatem aktywnym wkładem w literaturę światową zogniskowaną na ustaleniu znaczników hormonalnych ważnych w diagnostyce, profilaktyce i przebiegu klinicznym nowotworów płuc.

Ocena układu rozprawy doktorskiej i formalnej strony

Rozprawa doktorska mgr Claudii Musiał przygotowana została w formie hybrydowej - jako cykl dwóch prac, jednej oryginalnej i jednej przeglądowej oraz badań opisanych w manuskrypcie rozprawy. Prace, o których mowa wyżej zostały opublikowane w latach 2021- 2022. Podkreślić należy, że obie prace składające się na cykl zostały opublikowane w czasopismach z listy JCR oraz dużej liczbie punktów MEiN. Sumaryczna wartość współczynnika IF dla tych prac wynosiła w momencie publikacji 16,014, aliczba punktów MEiN to 280. Praca oryginalna opublikowana została w 2022 roku w czasopiśmie *Redox Biology* (MNiSW: 140, IF: 11.4), a przeglądowa w *International Journal of Environmental Research in Public Health* (MNiSW: 140, IF: 4.614 w momencie publikacji).

We wszystkich publikacjach składających się na cykl będący podstawą rozprawy, Doktorantka jest pierwszym autorem, a ponadto zgodnie z zamieszczonymi oświadczeniami współautorów, miała Ona wiodący udział w tworzeniu tych publikacji. We wszystkich pracach recenzowanego cyklu Doktorantka jest autorem koncepcyjnym i osobą, która opracowała oryginalne manuskrypty. Świadczy to o bardzo dużym zaangażowaniu i samodzielności Autorki. Jednocześnie skład autorski tych publikacji wskazuje na duże wsparcie i współdziałanie zespołu badawczego w realizacji badań, zwłaszcza w przypadku części eksperymentalnych. Nie jest to zaskakujące, albowiem jak wcześniej wspomniano, obszar badań nad nowotworami wymaga podejścia interdyscyplinarnego. Co godne podziwu, na wykonanie badań Doktorantka uzyskała dofinansowanie z GUMed w ramach Projektu Naukowego dla Młodych Naukowców.

W części poza publikacyjnej, rozprawa doktorska ogniskuje się na badaniach eksperymentalnych stanowiących kontynuację doświadczeń już opublikowanych, o których mowa powyżej.

Układ rozprawy doktorskiej mgr Claudii Musiał jest zgodny z normami przyjętymi dla tego typu opracowań. Zeszyt opracowania przygotowano syntetycznie, systematycznie i przejrzysto. Wynika to z pewnością z właściwie przyjętej koncepcji przygotowania rozprawy. Recenzowana rozprawa doktorska składa się z dwudziestu rozdziałów. Są to: 1. Wykaz stosowanych skrótów, 2. Dorobek naukowy w trakcie kształcenie w Pierwszej Szkole Doktorskiej GUMed, 3. Publikacje będące przedmiotem dysertacji, 4. Wsparcie projektu – finansowanie, 5, 6. Streszczenia w językach polskim i angielskim, 7. Wprowadzenie, 8. Cel pracy, 9. Omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, 10. Metody, 11. Wyniki, 12. Dyskusja, 13. Wnioski, 14. Pozostałe publikacje naukowe oraz książki autorskie, 15. Wystąpienia Konferencyjne, 16. Członkostwo w stowarzyszeniach naukowych, 17. Uczestnictwo w projektach badawczych, 18. Piśmiennictwo, 19. Spis Tabel i rycin, 20. Publikacje wchodzące w skład hybrydowej rozprawy doktorskiej. W opinii recenzenta rozdział nr 2 jest zbędny, gdyż przekierowuje do rozdziałów 3 oraz XIV. Do maszynopisu rozprawy dołączono oświadczenia współautorów publikacji o ich kontrybucji w powstanie prac. Wydaje się, że powinny być one integralną częścią rozprawy.

We wprowadzeniu Doktorantka wprowadza czytelnika w problematykę epidemiologii przyczyn nowotworów płuc, wskazując że jedną z kluczowych ról może steroidowa gospodarka hormonalna. Szczegółowo omawia rolę wybranych hormonów płciowych i ich pochodnych w aspektach pro- i anty kancerogennym. Skupia się za pracach *in vitro* oraz klinicznych, w tym także odwołując się do prac własnych. Choć rozdział ten jest napisany prawidłowo, to jednak w kilku fragmentach ma chaotyczny charakter; przykładowo w kilku miejscach opisywany jest mechanizm działania jednego z metabolitów steroidowych, tj. 2-metoksyestradiol. W opinii recenzenta brak pointy – choćby wskazania na zasadność podjęcia się tego tematu. W dalszej części pracy, Autorka prawidłowo formułuje cel główny i cele szczegółowe. W podrozdziale Metodyka opisuje zastosowane metody i techniki badawcze. Nie wyodrębnia jednak Materiałów (za wyjątek badanej populacji pacjentów), choć takie znajdują się w treści rozdziału pod punktami 9.1 czy 9.2. Metoda w punkcie 9.5 nie jest prawidłowo określona. Doktorantka, w kolejnych podrozdziałach omawia wyniki uzyskane w przebiegu prowadzonych doświadczeń, z ewentualnym odniesieniem do publikacji. W niemal ostatnich punktach, (tj. 10.6) rozdziału opisuje wyniki z badań nie opublikowanych. W kolejnym podrozdziale zatytułowanym Dyskusja autorka krytycznie odnosi się do wyników badań własnych konfrontując je z odkryciami innych autorów, przy czym odwołuje się zarówno do badań podstawowych, w

tym *in vitro*, jak i klinicznych. Pokazuje także aspekty translacyjne własnych odkryć, dokładając ważną cegiełkę do rozwoju diagnostyki i leczenia w zakresie onkologii.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

W pracy pogładowej Doktorantka przedstawiła aktualną wiedzę dotyczącą roli estrogenów w etiopatogenezie i terapii raka płuca, podkreślając jednocześnie istotny udział różnic płciowych w spektrum czynników ryzyka rozwoju tego schorzenia. Praca, oparta na aktualnej literaturze, stanowi doskonale wprowadzenie czytelnika w rozdział skomplikowanych lecz doskonałych badań Autorki. W pracy oryginalnej Doktorantka opisała wpływ 2-metoksyestradiolu na komórki niedrobnokomórkowego raka płuc w hodowli komórkowej *in vitro* (tj. modelach 2D i 3D). Wykazała, że ten endogeny metabolit 17β -estradiolu zmniejsza żywotność gruczolakoraka płuca, w tym indukuje śmierć jego komórek w mechanizmie indukcji stresu nitro-oksydacyjnego. Dodatkowo wykonano analizy stężeń wybranych hormonów steroidowych i ich metabolitów u nowo zdiagnozowanych pacjentów i zdrowych osób, wskazując że u chorych znacząco zmniejsza się stężenie 2-ME co może mieć perspektywicznie aspekt diagnostyczny i terapeutyczny. Metody statystyczne zastosowano prawidłowo. Na ogromne wyróżnienie zasługuje lista wykorzystanych w pracy technik analitycznych. W kolejnych eksperymentach – nie opublikowanych, lecz opisanych w manuskrypcie – Doktorantka wykazała, że 2-metoksyestradiol w zastosowanych modelach indukuje ferroptozę i nekroptozę i może wykazywać afekt synergistyczny/addytywny z 3-Bromopirogronianem. W opisie każdego z doświadczeń Doktorantka ekstrapoluje uzyskane wyniki na fenotyp kliniczny, w tym na możliwości aplikacyjne swoich odkryć. Wskazuje jasno, że 2-metoksyestradiol może być postrzegany jako potencjalny lek przeciwnowotworowy. Opisy w tej części są jasne, czytelne, napisane poprawnym słownictwem naukowym, ale przede wszystkim pozwalają czytelnikowi – który nie zawsze musi być specjalistą w zakresie onkologii – w zrozumieniu prezentowanych treści.

Rozdział Dyskusja jest dobrze przeprowadzony. Autorka krytycznie odnosi się do wyników badań własnych i potrafi skonfrontować swoje znaleziska z prezentowanymi w innych opracowaniach naukowych. Doskonale tłumaczy czytelnikowi implikacje fenotypowe obserwowanych zmian. Wskazuje także limitacje badań, czym podkreśla rzetelność warsztatu badawczego. Wnioski są trafne i wynikają z wyników badań.

Układ rozprawy doktorskiej wraz z zakresem dobranej literatury pozwalają

potwierdzić, że Doktorantka jest dobrze przygotowana do prezentowanej tematyki badawczej, a jej warsztat metodologiczny nie budzi zastrzeżeń. Publikacje składające się na cykl oraz wyniki nieopublikowanych badań są bardzo dobrze i starannie przygotowane, zawierają przejrzystą i właściwie dobraną do prezentowania określonego typu wyników dokumentację graficzną.

Podobnie wysoką jakością odznacza się rozdział dotyczący omówienia prac i jego streszczenie. Autorka w syntetycznej formie przedstawiła całość zagadnienia, naświetliła cele i przebieg badań oraz podkreśliła ważność uzyskanych wyników, wskazując na wkład w badania podstawowe i translacyjne. Wnioski są trafne i czytelne. Część z przedstawionych wniosków należy uznać jako wprowadzenie do kolejnych badań naukowych z omawianego tematu. W całości opracowania, Doktorantka zacytowała 65 publikacji, aktualnych i właściwie dobranych. Całość napisana jest względnie poprawnym stylistycznie językiem polskim.

Na szczególne podkreślenie w rozprawie doktorskiej zasługują:

- Zróżnicowany i bogaty warsztat metodyczny
- Wykorzystanie modeli 2D i 3D oraz obserwacji klinicznej
- koherencja przedstawionych treści
- aplikacyjny charakter eksperymentów

Wyniki opisane w recenzowanej rozprawie doktorskiej mają znaczący wkład w tworzenie polskiej nauki zogniskowanej na onkologii klinicznej. Są niezwykle istotne z punktu widzenia poznawczego i aplikacyjnego, gdyż uzupełniają wiedzę na temat możliwości diagnostycznych i terapeutycznych nowotworów płuca. Całość przedstawionej mi do oceny pracy oceniam wysoko i oprócz wskazanych przez Autorkę w maszynopisie limitacji, nie zauważam dodatkowych.

Z obowiązku Recenzenta wskazuję na liczne niezręczności językowe w pracy, w tym brak podmiotów/orzeczeń jak np.

1. NSCLC powszechnie określaną jako choroba heterogenna ze względu na znacznie większą częstość występowania tego nowotworu u kobiet
2. Wybrane eksperymenty wchodzące w skład niniejszej rozprawy doktorskiej zostały oznaczone w odpowiedni sposób
3. W tym zakresie zastosowanie barwników i barwników DNA, zastosowanie właściwości

stechiometrycznych.

4. Barwienie za pomoc PI jest metodą oceny skuteczności komórek.

Niniejsze uwagi, mają charakter marginalny i nie umniejszają zupełnie wysokiej wartości naukowej rozprawy. Praca napisana została w sposób wskazujący na dużą wiedzę teoretyczną, ale co najważniejsze z dążeniem do prezentacji wyników o charakterze aplikacyjnym. Umiejętność interpretacji wyników, ich syntetycznego przedstawienia oraz wnikliwa i twórcza dyskusja w prezentowanych pracach są na wysokim poziomie.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr Claudii Musiał pt. „**Biologiczne implikacje wybranych metabolitów 17 β -estradiolu w regulacji mechanizmów śmierci i przeżywalności komórek ludzkiego gruczołakoraka płuc, określone na podstawie dwuwymiarowych i trójwymiarowych modeli komórkowych**” stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego oraz **spełnia wymogi** art. 187 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce, tj. Dz. U. z 2021 r. poz. 478 ze zm. W związku z powyższym, przedstawiam Radzie Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego **wniosek o dopuszczenie Pani Claudii Musiał do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Prof. dr hab. Karolina Skonieczna-Żydecka