



Rzeszów, 31.03.2023

dr hab. Barbara Pilch-Pitera, prof. PRz
Katedra Polimerów i Biopolimerów
e-mail: barbpi@prz.edu.pl

Ocena pracy doktorskiej pt. „Zastosowanie jądrowego rezonansu magnetycznego w detekcji wiązania Trastuzumabu z komórkami raka piersi” przedstawionej przez mgr inż. Zuzannę Bober

Niniejsza recenzja została opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego z dnia 19.01.2023r. o wyznaczeniu recenzentów w przewodzie doktorskim, w dyscyplinie nauk o zdrowiu mgr inż. Zuzanny Bober. Rozprawa doktorska została przekazana przez prof. dr hab. n. med. Artura Mazura Prorektora ds. Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego pismem z dnia 14.03.2023.

Ogólna charakterystyka pracy doktorskiej i dorobku naukowego Doktorantki

Recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Zuzanny Bober zatytułowana „Zastosowanie jądrowego rezonansu magnetycznego w detekcji wiązania Trastuzumabu z komórkami raka piersi” została zrealizowana w Kolegium Nauk Medycznych URz pod kierunkiem profesora tej uczelni dr hab. n. med. inż. Doroty Bartusik-Aebisher.

Podstawą rozprawy jest 8 spójnych tematycznie prac opublikowanych w latach 2020-2023 w czasopismach z listy JCR, o sumarycznym wskaźniku cytowań (Impact factor) równym IF=23,251 (MEiN 740 punktów). Praca 8 w czasopiśmie International Journal of Molecular Sciences (IF=6,208, pkt. MEiN:140), ukazała się po złożeniu rozprawy przez doktorantkę, w związku z czym nie została uwzględniona w przedłożonym egzemplarzu. Do cyklu poprzedzonego wykazem skrótów, wstępem, uzasadnieniem tematu oraz wyjaśnieniem problemu badawczego, autorka dołączyła opisy każdej z prac, podsumowanie, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, oświadczenia współautorów o ich wkładzie w powstanie poszczególnych publikacji, a także informacje o jej osiągnięciach naukowych i opinię Komisji Bioetycznej. Wszystkie wchodzące w skład cyklu prace są wieloautorskie. W 4 pozycjach autorka jest pierwszym autorem. Na podstawie oświadczeń współautorów udział doktorantki w powstaniu poszczególnych publikacji, był dominujący (wynosił po 60%) i polegał na współtworzeniu koncepcji badań, wykonywaniu prac eksperymentalnych oraz interpretacji i opracowaniu wyników doświadczalnych, opracowaniu manuskryptu, analizie bibliograficznej, a także uczestnictwie w procesie publikacji.

Na podstawie powyższych informacji można jednoznacznie stwierdzić, że przedłożona praca doktorska spełnia wszystkie wymogi ustawowe przyjęte przez krajowe instytucje akademickie dla tej formy rozprawy doktorskiej.

Wykaz osiągnięć naukowych Doktorantki obejmuje 9 publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej ze wskaźnikiem IF o łącznym IF=30,119, 19 publikacji bez IF z punktacją MEIN oraz





6 rozdziałów. Łączna liczba punktów wynosi 1220. Doktorantka jest pierwszym autorem czterech artykułów z IF, 10 publikacji z punktacją MEiN oraz 3 rozdziałów.

Wymogi formalne pracy

Praca doktorska mgr inż. Zuzanny Bober opiera się na 8 spójnych tematycznie pracach opublikowanych w latach 2020-2023 w czasopismach o zasięgu międzynarodowym indeksowanych w bazie Journal Citation Reports. Tytuł przedstawionej rozprawy jest poprawnie zdefiniowany w odniesieniu do celu pracy oraz uzyskanych wyników badań.

W skład rozprawy, oprócz ww. artykułów wchodzi też opracowanie w języku polskim zawierające m.in. wstęp teoretyczny i uzasadnienie tematu, opis poszczególnych publikacji, podsumowanie i wnioski. Ta część jest napisana bardzo starannie i w sposób niezwykle uporządkowany.

Praca jest dobrze ustrukturyzowana, zawiera wszystkie niezbędne elementy rozprawy naukowej. Przedstawione publikacje są obszerne, 4 z nich to prace przeglądowe dotyczące problematyki badawczej powstałe na podstawie wnikliwego przeglądu literatury. Pierwsza z nich odnosi się aż do 173 pozycji literaturowych, druga do 124, trzecia to przegląd aż 174 prac, w czwartej jest zacytowane 71 artykułów, co świadczy o bardzo dobrym rozeznaniu teoretycznym Doktorantki w podjętej tematyce badawczej. Kolejne 4 artykuły prezentują wyniki przeprowadzonych prac badawczych.

Ocena merytoryczna

W swojej pracy doktorskiej mgr inż. Zuzanna Bober zainteresowała się detekcją wiązania leku biologicznego Trastuzumab w hodowli komórkowej raka piersi *in vitro* w kontekście działania przeciwnowotworowego. W swych badaniach skoncentrowała się głównie na obrazowaniu trójwymiarowych hodowli komórkowych *in vitro* techniką ^1H MRI.

Problem badawczy polegał na opracowaniu metodologii monitorowania leków na poziomie komórkowym, co jest kluczowym krokiem w rozwoju nowych terapii celowanych. Do badań wybrała nieinwazyjną metodę diagnostyczną obrazowania rezonansu magnetycznego (MRI), którą można zastosować w rozwoju dalszych badań *in vivo*.

Praca doktorska ma skonkretyzowane, jasno określone cele, które dotyczyły:

1. Zastosowania aparatu rezonansu magnetycznego do obrazowania hodowli komórkowych
2. Detekcji Trastuzumabu w hodowli komórkowej raka piersi *in vitro* za pomocą czasów relaksacji ^1H MRI
3. Oceny zastosowania MRI do detekcji wiązania Trastuzumabu z komórkami raka piersi *in vitro*.

W celu teoretycznego przygotowania się do rozwiązania problemu badawczego, Doktorantka dokonała przeglądu aktualnego stanu wiedzy, co potwierdzają opublikowane 4 prace przeglądowe zatytułowane: „Multiple cell cultures for MRI analysis”, „Application of dendrimers in anticancer diagnostics and therapy”, „Multinuclear MRI in drug discovery” i „Selected applications of fluorinated MR contrast agents and fluorine-containing drug in medicine”. Opublikowane prace są bardzo obszerne, obejmują rzetelny przegląd najważniejszych zagadnień związanych bezpośrednio z podjętą





tematyką badawczą oraz wskazują potrzebę przeprowadzenia zaplanowanych badań w świetle aktualnego stanu wiedzy.

Przedstawiony problem badawczy jest uzasadniony i ma odzwierciedlenie w uzyskanych wynikach badań, które zostały opublikowane w kolejnych 4 pracach. Pierwsza z nich dotyczy optymalizacji warunków i parametrów obrazowania hodowli komórkowych ze wzmocnieniem kontrastowym po zastosowaniu środków kontrastowych na bazie gadolinu, co wpłynęło korzystnie na poprawę jakości obrazu. Druga praca koncentruje się na syntezie oraz opracowaniu systemu dostarczania leku będącego kowalencyjnym połączeniem Trastuzumabu z fluorowanymi dendrymerami. Większa skuteczność tego leku w porównaniu z niezwiązanym Trastuzumabem potwierdzona przeprowadzonymi przez doktorantkę badaniami, rokuje na możliwość wykorzystania go do leczenia raka piersi. Kolejny artykuł dotyczy optymalizacji protokołu obrazowania MRI do oceny zmian biologicznych zastosowanej terapii lekowej. W ostatnim artykule, który ukazał się po złożeniu pracy, Doktorantka z powodzeniem opracowała parametry obrazowania MRI hodowli komórek nowotworowych z ekspresją HER-2 oraz zdrowych przed i po potraktowaniu Trastuzumabem oraz jego pochodnymi.

Zaprezentowane badania eksperymentalne zrealizowane przez Panią mgr inż. Zuzannę Bober są oparte o dobrze zaplanowaną koncepcję oraz właściwie dobraną metodologię i metody badawcze. Dobór metodyki badawczej w prezentowanych pracach eksperymentalnych pozwolił Autorce z powodzeniem dokonać analizy detekcji Trastuzumabu i jego pochodnych w hodowlach komórkowych techniką MRI, co potwierdza zrealizowanie założonych celów badań.

Zaprezentowane w artykułach wyniki badań zawierające wzory, rysunki i tabele, zostały wnikliwie przedyskutowane oraz porównane z rezultatami prac innych badaczy. Takie podejście pozwoliło jej dokonać analizy porównawczej i sformułować wnioski, które w pełni odpowiadają na postawione cele. Doktorantce udało się skutecznie zróżnicować komórki zdrowe i nowotworowe za pomocą aparatu rezonansu magnetycznego o polu 1,5Tesla z wykorzystaniem techniki pomiarów czasów relaksacji T1 i T2. Odpowiednio dobrane parametry protokołu MRI oraz opracowana metodologia pomiaru umożliwiła detekcję wiązania Trastuzumabu z komórkami raka piersi, co może być niezwykle przydatne w nieinwazyjnym monitorowaniu przeciwnowotworowego efektu terapeutycznego. W rezultacie przeprowadzonych badań Doktorantka uzyskała interesujące wyniki, które zawierają elementy nowości naukowej, w szczególności opracowany system dostarczania leku będący kowalencyjnym połączeniem Trastuzumabu z fluorowanymi dendrymerami oraz metodyka jego detekcji w kulturach 3D techniką obrazowania MRI za pomocą pomiarów czasów relaksacji. Dysertacja kończy się zwięzłym podsumowaniem uzyskanych wyników, które zostało zredagowane poprawnie. W przedstawionej dysertacji można napotkać drobne błędy językowe, które nie umniejszają jej wartości merytorycznej.

Badania wykonane przez Doktorantkę mają dużą wartość poznawczą i aplikacyjną. Jednakże chciałabym, aby Autorka ustosunkowała się do kilku aspektów, które moim zdaniem mają istotny wpływ na omawiane zagadnienia oraz kierunki dalszych badań:

- jak zaproponowana modyfikacja Trastuzumabu może wpłynąć na bezpieczeństwo terapii *in vivo*?





- czy zastosowanie pochodnej Trastuzumabu *in vivo* wpłynie na zmiany w procesie terapeutycznym raka piersi?
- jakie może być praktyczne przełożenie opracowanej metodologii obrazowania MRI na proces diagnostyczno-terapeutyczny *in vivo*?

Podsumowanie

Podjęta tematyka w ramach rozprawy doktorskiej mgr inż. Zuzanny Bober jest bardzo interesująca zarówno pod względem naukowym jak i praktycznym oraz wpisuje się w aktualne trendy badawcze prowadzone w dyscyplinie nauk o zdrowiu. Rozprawa została przygotowana w sposób staranny od strony merytorycznej i edytorskiej. Zawiera pełną dokumentację przeprowadzonych badań, rzetelną dyskusję uzyskanych wyników oraz uzasadnione wnioski. Doktorantka umiejętnie zaplanowała, a następnie prawidłowo przeprowadziła badania, uzyskując wyniki o dużym potencjale zastosowania w praktyce. Jako najważniejsze osiągnięcia Doktorantki można uznać opracowanie systemu dostarczania leku będący kowalencyjnym połączeniem Trastuzumabu z fluorowanymi dendrymerami oraz metodyki jego detekcji w kulturach 3D techniką obrazowania MRI za pomocą pomiarów czasów relaksacji. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań stanowią cenny wkład w rozwój nieinwazyjnych metod monitorowania przeciwnowotworowych efektów terapeutycznych.

Podsumowując całość rozprawy mgr inż. Zuzanny Bober stwierdzam, że stanowi ona oryginalne rozwiązanie bardzo ważnego problemu naukowego. Doktorantka wykazała się odpowiednią wiedzą teoretyczną oraz praktyczną, a także umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa swoim zakresem i sposobem opracowania spełnia, w moim przeświadczeniu wszystkie wymagania określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. Zm.) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669, z późniejszymi zmianami) oraz ustawy z 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1668 z późniejszymi zmianami) stawiane pracom doktorskim, dlatego wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr inż. Zuzanny Bober do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jestem także przekonana, że rozprawa autorstwa Pani mgr inż. Zuzanny Bober zasługuje na wyróżnienie. Przedstawiony dorobek naukowy powstały podczas jej wykonywania w postaci 9 publikacji z IF i 19 publikacji z punktacją MEiN oraz 6 rozdziałów jest imponujący. Ponadto należy podkreślić, że duży potencjał aplikacyjny badań Doktorantki, który wpisuje się w aktualne trendy związane z poszukiwaniem skutecznych terapii przeciwnowotworowych, może przełożyć się w przyszłości na lepsze efekty kliniczne i terapeutyczne *in vivo*.


dr hab. Barbara Plich-Pitera, prof. PRz

