

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. med. Joanny Gustalik-Nowickiej

**pt.: „Przydatność diagnostyczna czasów relaksacji metodą rezonansu magnetycznego
oraz skuteczność terapii fotodynamicznej w raku piersi”**

**wykonanej w Zakładzie Biochemii i Chemii Ogólnej,
w Zakładzie Fotomedycyny i Chemii Fizycznej Przyrodniczo-Medycznego Centrum
Badań Innowacyjnych Uniwersytetu Rzeszowskiego
oraz w Klinicznym Zakładzie Patomorfologii Klinicznego Szpitala nr 1 w Rzeszowie**

pod kierunkiem dr hab. n. med. inż. Doroty Bartusik-Aebisher, prof. UR

oraz dr hab. n. med. Ewy Kaznowskiej, prof. UR.

Rak piersi jest stale zaliczany do najczęstszych nowotworów złośliwych występujących u kobiet, głównie mieszanek krajów należących do krajów wysoko rozwiniętych, jak USA, Kanada czy kraje Europy Zachodniej. Szacuje się, że rocznie na świecie diagnozowanych jest około 1,5 mln przypadków raka piersi u kobiet, notuje się natomiast około 400 tys. zgonów z tego powodu. Zgodnie z danymi zawartymi na stronach Narodowego Rejestru Nowotworów, w naszym kraju rak piersi u kobiet stanowi ponad 1/5 wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe i około 15% zgonów z tego powodu (<http://onkologia.org.pl/rak-piersi-kobiet/>). Od 2010 roku ponownie obserwuje się rosnący trend umieralności na raka piersi przy nieprzerwanie rosnącej liczbie zachorowań. Prognozy wzrostu umieralności wskazują na niedostateczne działania zmierzające do wykrycia i leczenia nowotworów piersi we wczesnym stadium ich rozwoju. Dlatego badania mające na celu poprawę wczesnego wykrycia nowotworów są niezbędne do poprawy rokowania i zwiększenia czasu przeżycia pacjentów, u których potwierdzono chorobę nowotworową.

W związku z powyższym zadanie podjęte przez Panią Joannę Gustalik-Nowicką w pracy doktorskiej, której celem było zbadanie przydatności diagnostycznej czasów relaksacji

jąder protonu spin-sieć (T_1) oraz spin-spin (T_2) metodą rezonansu magnetycznego i zastosowanie metody fotodynamicznej w próbkach tkankowych *in vitro* wpisuje się w niezbędny nurt badań o dużym znaczeniu praktycznym.

Praca doktorska Pani lek. med. Joanny Gustalik-Nowickiej ma układ typowy dla tego rodzaju opracowań. Praca zawarta na 163 stronach składa się z części teoretycznej, celu pracy, części doświadczalnej (Metodologia), omówienia wyników, dyskusji i wniosków. Dysertacja zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim, rozdział poświęcony piśmiennictwu, spis tabel i rycin oraz bardzo przydatny wykaz skrótów. Przedstawiona do recenzji rozprawa jest obficie udokumentowana 129 rycinami, 10 tabelami oraz przypisami literaturowymi w ilości 169, w większości anglojęzycznymi, a w zdecydowanej większości opublikowanymi w ciągu ostatnich 10 lat.

W **części teoretycznej** pracy Autorka opisała aktualne możliwości diagnostyczne magnetycznego rezonansu jądrowego w nowotworach złośliwych, w tym w raku piersi. W wyczerpujący sposób opisała zagadnienie terapii fotodynamicznej z uwzględnieniem rysu historycznego, z podaniem zasady działania terapii fotodynamicznej oraz dokonała przeglądu piśmiennictwa pod kątem aktualnego zastosowania tej metody w terapii nowotworów złośliwych. Wstęp zilustrowany jest 5 rycinami, które ułatwiają czytelnikowi poznanie i zrozumienie tematyki dysertacji doktorskiej, a szczególnie części opisującej zasadę działania terapii fotodynamicznej.

Cel pracy doktorskiej stanowiący zobrazowanie ognisk komórek rakowych w wycinku tkankowym z raka piersi metodą rezonansu magnetycznego oraz ocenę zmian w badanej tkance nowotworowej pod wpływem zastosowanej terapii fotodynamicznej, był wyzwaniem ambitnym, pracochłonnym oraz wymagającym podejścia interdyscyplinarnego.

W **Części doświadczalnej** Autorka podała opis metodyki badawczej, który zilustrowała rycinami ułatwiającymi zrozumienie wykonywanych eksperymentów. Brakuje tu jednak starannego wykazu odczynników i materiałów zastosowanych w pracy jak też szczegółów związanych z użytą w badaniach aparaturą, jak np. lokalizacja firmy czy wersją programu MATLAB.

Przedstawione **wyniki** zostały zebrane na 74 stronach i zilustrowane bardzo bogatym materiałem faktograficznym w postaci 115 rycin i 9 tabel. W kolejnej części Doktorantka przedstawiła **dyskusję** otrzymanych wyników. Dodatkowo przedstawiła zastosowanie obrazowania rezonansem magnetycznym w diagnostyce i terapii raka piersi z bardziej szczegółowym rozwinięciem zasady działania i możliwości tej metody.

Sformułowane **Wnioski** wskazują na umiejętność Doktorantki do przekazania dokonań pracy badawczej w przystępny i zwięzły sposób.

Prezentacja wyników w formie opisowej, tabelarycznej i graficznej oraz edytorska część dysertacji zasługują na ocenę pozytywną.

Do **najważniejszych osiągnięć** Pani lek. med. Joanny Gustalik-Nowickiej należy zaliczyć potwierdzenie przydatności metody rezonansu magnetycznego w rozróżnieniu obszarów tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej poprzez pomiar czasów relaksacji z wykorzystaniem urządzenia o indukcji pola magnetycznego 1,5 T, w oparciu o analizę próbek tkankowych pochodzących z piersi 30 pacjentek ze zdiagnozowanym rakiem piersi. Parametry metody MR dobrane w ramach prowadzonej pracy doktorskiej będą mogły posłużyć w następnych projektach badawczych, stanowiących kolejny krok w kierunku szerszego stosowania diagnostycznego tej metody.

Również należy podkreślić pionierskie zastosowanie terapii fotodynamicznej na próbkach tkankowych i przeprowadzenie oceny działania tej terapii poprzez użycie metody rezonansu magnetycznego. Dobór warunków prowadzenia terapii fotodynamicznej, czyli dobór odpowiedniej substancji fotouczulającej oraz wskazanie optymalnego dla badań stężenia tych związków, jest kolejnym ważnym osiągnięciem Doktorantki, które będzie stanowiło podstawę dalszych badań w tym obszarze.

Pomyślne opanowanie trudnej i pracochłonnej metodyki rezonansu magnetycznego oraz metodyki związanej z badaniami terapii fotodynamicznej *in vitro* wraz z równoległym przeprowadzeniem badań histopatologicznych należy uznać za jeden z głównych atutów pracy doktorskiej.

Z uznaniem należy podkreślić, że postawione cele pracy doktorskiej wymagały dużego zaangażowania Doktorantki łączącego część kliniczną pracy, czyli zgromadzenie próbek tkankowych od pacjentek poddawanych operacji chirurgicznej, z częścią laboratoryjną, wymagającą posiadania umiejętności manualnych. Warto też wspomnieć o licznych doniesieniach konferencyjnych i kilku pracach przeglądowych w tematyce powiązanej z doktoratem bezpośrednio lub w sposób pośredni, których Doktorantka jest współautorką albo pierwszą autorką, co dobrze rokuje na przyszłość w kontekście umiejętności prowadzenia samodzielnej pracy naukowej.

W toku badań Autorka wykazała się biegłością w opanowaniu pracy laboratoryjnej związanej z oceną histopatologiczną tkanek, stosowaniem rezonansu magnetycznego i terapii fotodynamicznej *in vitro*. Trzeba dodać, że osiągnięcie celu pracy wymagało zaangażowania się Doktorantki w prace różnych zespołów, zarówno klinicznych jak i badawczych, uniwersyteckich i związanych ze Szpitalem Klinicznym nr 1 w Rzeszowie. Wykazana w ten sposób interdyscyplinarność pracy niewątpliwie wymaga uznania.

Lektura przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej skłania do postawienia kilku pytań. Jednym z nałożonych na recenzenta obowiązków jest zwrócenie uwagi na nieścisłości czy mankamenty, które dostrzeżone zostaną w trakcie lektury dysertacji. Wywiązując się z tego obowiązku chciałam prosić o odniesienie się do następujących uwag.

1. W ramach badań związanych z terapią fotodynamiczną próbki poddawano działaniu światła o długości fali dostosowanej do wybranej substancji fotouczulającej przez 15 min. Na jakiej podstawie dokonano wyboru długości czasu naświetlania?
2. Próbki poddawane były terapii fotodynamicznej z wykorzystaniem kilku substancji fotouczulających. Czy rozważane było również badanie tkanek z dodatkiem jedynie rozpuszczalnika substancji fotouczulających (woda, CH_2Cl_2), co stanowiłoby dodatkową kontrolę przebiegu eksperymentu?
3. Na stronie 76 pracy stwierdzenie „Stopień ich nasilenia był wprost proporcjonalny do stężenia zastosowanej substancji fotouczulającej” jest stwierdzeniem najprawdopodobniej

uprawnionym, ale nie do końca udokumentowanym w pracy. Proponowałabym przedstawić wyniki potwierdzające to zdanie poprzez zamieszczenie i upowszechnienie danych w artykule naukowym. Nie do końca jest też jasne ile próbek było ujętych w badaniach optymalizacyjnych związanych z wyborem najskuteczniejszego stężenia substancji fotouczulającej.

4. Na Rycinie 4.1 wśród pytań naukowych projektu pojawia się stwierdzenie / pytanie dotyczące składu chemicznego tkanki. Czy można prosić o wyjaśnienie tego konceptu?

5. We wstępie pracy, na str. 19, jest mowa o dyscyplinach, które przyczyniły się do rozwoju terapii fotodynamicznej. Wydaje się, że do identyfikacji mechanizmów dystrybucji substancji fotouczulających w głównej mierze przyczyniły się nie tyle farmakologia i fizjologia co w węższym ujęciu, farmakokinetyka, czyli obszar nauki badający losy leku w organizmie.

6. Praca napisana jest poprawnym językiem choć zawiera potknięcia redakcyjne czy edytorskie. Nie udało się też Autorce wyeliminować języka żargonowego, który w kilku miejscach pojawia się w części teoretycznej i doświadczalnej pracy, np.:

- „niskie pole”, „o wyższym polu” (str. 12)

- „w 1960 r. Lipson i wsp. opisali pochodną hematoporfiryny (HpD) przez traktowanie chlorku hematoporfiryny kwasem solnym i kwasem siarkowym” (str. 15)

- „obrazowanie MR o wysokiej rozdzielczości może zapewnić zmiany anatomiczne i morfologiczne” (str. 22)

- „spożycie tlenu” (str. 23)

- „mapy relaksacji zostały wykorzystane do uzyskania ilościowych oszacowań stężenia żelaza w wątrobie” (str. 114)

7. Kilka paragrafów pracy, mam wrażenie, znalazło się w dysertacji niejako przez pomyłkę. To niedopatrzenie oraz wymienione wyżej potknięcia świadczą o ogromnym pośpiechu w trakcie pisania pracy doktorskiej, co można wytłumaczyć uwarunkowaniami pozanaukowymi Doktorantki.

Wymienione wyżej uchybienia nie obniżają pozytywnej oceny rozprawy doktorskiej autorstwa lek. med. Joanny Gustalik-Nowickiej, która stanowi opracowanie wartościowe zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia. Stwierdzam, że w pełni odpowiada ona warunkom formalnym i merytorycznym stawianym rozprawom doktorskim zawartym w art. 179 ust. 1 ustawy z dn. 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2019 r., poz. 1655) w związku z art. 11, 12, 13, 13 a, 14, 14 a, 15 i 20 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i wnoszę do Rady Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie lek. med. Joanny Gustalik-Nowickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk, 10 stycznia 2022 r.

p.o. KIEROWNIK KATEDRY
Biofarmacji i Farmakodynamiki

dr hab. Danuta Siluk, prof. uczelni