

Poznań, 15-06-2022

dr hab. Magdalena Człapka-Matyasik
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 31; 60-624 Poznań
magdalena.matyasik@up.poznan.pl

Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr Marioli Drozdowskiej

pt. "Badania in vitro przeciwnowotworowych właściwości młodych pędów kapusty głowiastej czerwonej (*Brassica oleracea* f. *rubra*) na ludzkich liniach komórkowych gruczołu krokowego"

wykonanej w Katedrze Żywienia Człowieka i Dietetyki, Wydziału Technologii Żywności,

Uniwersytetu Rolniczego im. Hugo Kołłątaja w Krakowie

pod kierunkiem prof. dr hab. inż. n. med. Teresy Leszczyńskiej i promotor pomocniczej

dr hab. inż. Anety Koronowicz, prof. URK

Podstawa prawna: Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, art. 13.1 z późn. zm.) oraz o przepisach zmieniających ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 3 lipca 2018 roku (Dz.U. z 2018 pozycja 1669).

Podstawą opracowania oceny jest:

- pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugo Kołłątaja w Krakowie Pana dra hab. inż. Marcina Łukasiewicz, prof. URK (DTŻ 520-14-74/2022), który zgodnie z decyzją rady ww. dyscypliny zwrócił się z prośbą o opracowanie oceny ww. pracy doktorskiej;

- praca doktorska mgr Marioli Drozdowskiej

Informacje ogólnie

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska magister Marioli Drozdowskiej podejmuje zagadnienie badawcze poszukiwania i opisanie potencjału przeciwnowotworowego nieprzebadanych do tej pory pędów młodej kapusty głowiastej na tle warzywa w pełnej fazie dojrzałości i skupia się nad ich działaniem na ludzkich komórkach nowotworowych gruczołu krokowego linii DU 145 oraz LNCaP i kontrolnej PNT-2. Przy czym cel ten Autorka realizuje etapowo, (1) rozpoczynając od oceny składu i potencjału antyoksydacyjnego rośliny potencjalnie odpowiedzialnego za opisywane działanie, (2) następnie określając właściwości proliferacyjne

komórek pod wpływem działania soku i (3) ostatecznie podejmując próbę wyjaśnienia molekularnych mechanizmów prowadzących do zahamowania wzrostu i indukcji apoptozy komórek nowotworowych gruczołu krokowego.

Zasadnicza część rozprawy jest cyklem trzech prac poprzedzonych badaniem pilotażowym (czwarta praca). Wszystkie opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych. Tradycyjnie dla tego typu opracowań dysertacja została opatrzona wstępem, określeniem celów i hipotez, streszczeniami w języku polskim i angielskim, podsumowaniem, wnioskami oraz załącznikami. Całość tekstu liczy 44 strony (bez piśmiennictwa i załączników).

Wstęp pracy

Opisano jasno i klarownie. Autorka wprowadza czytelnika w problematykę chemoprewencji, ze szczególnym uwzględnieniem nowotworów gruczołu krokowego. Porusza problematykę mechanizmów chemoprewencji uzasadniając wykorzystanie warzyw krzyżowych i omawiając ich właściwości prozdrowotne – przeciwzapalne, przeciwutleniające i przeciwnowotworowe. Autorka w zwięzły sposób wprowadza czytelnika w zagadnienia nutrigenomiki, które leżą u podstaw oddziaływania bioaktywnych składników diety, w tym glukozynolanów na funkcjonowanie szlaków metabolicznych i sygnałowych, aktywność czynników transkrypcyjnych. Po takim merytorycznym uzasadnieniu popartym szeroko najnowszym piśmiennictwem z dziedziny, wyłania się geneza i potrzeba powstania niniejszej pracy. Ta część pracy świadczy o umiejętności doktorantki do rzeczowego i skonkretyzowanego podejścia do bardzo szerokiego i rozległego tematu.

Cele pracy

Zostały przedstawione w kontekście wspomnianych wyżej trzech publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej jasno i czytelnie. Tak więc celami było porównanie składu i potencjału antyoksydacyjnego młodych pędów kapusty głowiastej i warzywa w fazie pełnej dojrzałości. Następnie porównanie zdolności proliferacyjnych komórek zdrowych i nowotworowych pod wpływem działania soku z obu warzyw. I finalnie trzeciej części pracy wyjaśnienia molekularnych mechanizmów w odpowiedzi na działanie świeżego i poddanego trawieniu *in vitro* soku z obu warzyw na aktywację szlaków sygnałowych prowadzących do zahamowania wzrostu oraz indukcji apoptozy komórek nowotworowych gruczołu krokowego.

Merytoryczna ocena pracy

Pierwsza z cyklu trzech prac zatytułowana „Young shoots of red cabbage are a better source of selected nutrients and glucosinolates in comparison to the vegetable at full maturity” opublikowana w renomowanym czasopiśmie *European Food Research and Technology* (IF: 2,998; MEiN: 70 pkt). Doktorantka jest pierwszą autorką pracy. Jej główny cel badawczy był związany z

kompleksową oceną i porównaniem składu młodych pędów kapusty głowiastej czerwonej. Celem badań było ustalenie, po raz pierwszy w ujęciu kompleksowym czy młode pędy kapusty czerwogłowej są lepszym źródłem wybranych składników odżywczych i glukozyolanów w diecie człowieka w porównaniu z warzywami w pełnej dojrzałości. Wykorzystując bardzo szeroką i różnorodną metodykę, zbadano skład proksymalny (białko, tłuszcze, węglowodany przyswajalne, błonnik), profil kwasów tłuszczowych, składniki mineralne (wapń, magnez, potas, sód, żelazo, cynk, mangan, miedź) oraz glukozyolany. W pracy wykazano po raz pierwszy różnice pomiędzy młodymi pędami kapusty na tle jej dojrzałego warzywa, przy czym kapusta wśród szeregu parametrów miała istotnie większą zawartość suchej masy oraz węglowodanów ogółem w porównaniu z młodymi pędami. Pokazano także, że gotowe do spożycia młode pędy, znajdujące się w fazie intensywnego wzrostu, są lepszym źródłem białka, wyselekcjonowanych składników mineralnych, a zwłaszcza glukozyolanów. Autorka w pracy poczyniła bardzo interesujące obserwacje dotyczące składu i ich prozdrowotnego działania.

Druga praca, zatytułowana "Comparative study of young shoots and the mature red headed cabbage as antioxidant food resources with antiproliferative effect on prostate cancer cells". Opublikowana w renomowanym czasopiśmie RSC Advances (IF: 3,361; MEiN: 100 pkt). Doktorantka jest pierwszym autorem pracy. Celem pracy było porównanie zawartości związków bioaktywnych, w tym analiza HPLC polifenoli i aktywności przeciwutleniającej młodych pędów kapusty czerwonej i warzywa w pełnej dojrzałości. Oznaczono również zawartość witaminy C i polifenoli w sokach uzyskanych z młodych pędów i dojrzałego warzywa. Drugim celem pracy było potwierdzenie hipotezy, że sok z młodych pędów skuteczniej w porównaniu z sokiem z dojrzałego warzywa ogranicza proliferację linii komórkowych raka prostaty DU145 i LNCaP in vitro. Badania wykazały istotnie wyższą zawartość witaminy C i karotenoidów oraz wyższą aktywność przeciwutleniającą stwierdzono w jadalnych młodych pędach w porównaniu z dojrzałym warzywem. Ponadto badania wykazały wyższą zawartość witaminy C w soku z młodych pędów niż w soku z dojrzałego warzywa i zbliżoną zawartość związków polifenolowych. Poziom całkowitej zawartości polifenoli w badanych próbkach roślin nie różnił się istotnie. Głównymi polifenolami w młodych pędach i otrzymanym z nich soku były flawonoidy, natomiast w dojrzałym warzywie i otrzymanym z niego soku dominowały kwasy fenolowe. Także, co było niezwykle istotne i obiecujące z punktu widzenia całej pracy (doktorskiej) sok z młodych pędów wykazał in vitro silniejsze działanie antyproliferacyjne na komórki raka prostaty niż sok z dojrzałego warzywa.

Trzecia praca składająca się na rozprawę doktorską, zatytułowana „Young Shoots and Mature Red Cabbage Inhibit Proliferation and Induce Apoptosis of Prostate Cancer Cell Lines”. Opublikowana w czasopiśmie Applied Sciences (IF: 2,679; MEiN: 100 pkt) . Doktorantka jest pierwszym autorem pracy. W manuskrypcie podjęto próbę odpowiedzi na pytanie czy młode pędy w porównaniu

z sokiem z dojrzałego warzywa skuteczniej wpływają na linie komórkowe raka prostaty DU145 i LNCaP? W pracy, co jest bardzo cenne, podjęto próbę identyfikacji potencjalnych mechanizmów, za pomocą których materiał roślinny może wpływać na raka prostaty. Potwierdzono, że badane warzywo hamowało proliferację komórek nowotworowych oraz związek tego procesu z indukcją apoptozy poprzez szlaki zależne od kaspazy (zewnętrzne i wewnętrzne). Ponadto zaobserwowano również regulację genów i białek związanych z przeżyciem komórek i zdarzeniami apoptozy.

W omówieniu wyników Doktorantka przedyskutowała całość prac badawczych i przedstawiła zwięzłe konkluzje. Omówienie jest poprawne, zwięzłe i syntetyczne a wnioski są uzasadnione i świadczą o dużej wiedzy teoretycznej i praktycznej ale i sporym krytycyzmie badaczki. W podsumowaniu Autorka skrupulatnie odnosi się do każdej postawionej hipotezy i weryfikuje ją.

Nie sposób oceniać rozprawy Pani mgr Marioli Drozdowskiej w oderwaniu od całościowego dorobku naukowego. Zwracam szczególną uwagę na dorobek Doktorantki. Jest Autorką 12 publikacji pełnotekstowych w międzynarodowych czasopismach z Listy Filadelfijskiej. Łączny Impact Factor za publikacje pełnotekstowe wynosi 53,873 a liczba punktów MNiSW 1170. Indeks Hirscha wynosi 5 przy całkowitej liczbie cytowań artykułów pełnotekstowych 49.

Szczegółowa lektura pracy pozwoliła recenzent na drobne, wręcz uwagi i komentarze. Z obowiązku recenzenta zmuszona jestem wskazać je i podkreślić, że nie wpływają one na wysoką merytoryczną ocenę i nie umniejszają istotnych osiągnięć pracy. Poproszę Doktorantkę o komentarz lub dyskusję podczas publicznej obrony.

1. Interesującym z punktu widzenia dietyki klinicznej i chemoprewencji nowotworów gruczołu krokowego byłaby próba podejścia ilościowego do spożycia produktów z kapusty czerwonej, które jako kapustne nie zawsze cieszą się zainteresowaniem konsumentów. Jakie wg opinii Doktorantki należałoby rozpatrywać spożycie by brać pod uwagę chemoprewencyjne działanie tej rośliny?
2. Jakie znaczenie zdaniem Doktorantki ma zmienność gatunkowa kapusty czerwonej na jej chemoprewencyjne właściwości?
3. Wątpliwe jest stwierdzenie w pracy dotyczące właściwości glukoiberyny: „hamująca stres oksydacyjny” (str. 28 – omówienie wyników). W sformułowaniach dotyczących stresu oksydacyjnego sugeruję używać raczej „obniżająca poziom stresu oksydacyjnego”. Pomimo, że wspomniany stres oksydacyjny jest procesem dynamicznym jego miarą nie jest prędkość a wysokość, używana w piśmiennictwie, zatem warte rozważenia jest sformułowanie informujące o jego poziomie.
4. Do oznaczenia całkowitego potencjału antyoksydacyjnego służy wskaźnik ORAC (Oxygen radical absorbance capacity). Pomimo różnic w opinii wielu badaczy na jego temat, jest szeroko

wykorzystywany do oceny potencjału antyoksydacyjnego wielu produktów i do porównania ich potencjalnych właściwości chemoprewencyjnych. Sugeruję wykorzystanie go jako jednego z wielu markerów potencjału antyoksydacyjnego w ocenie i dyskusji nad całkowitym potencjałem chemoprewencyjnym badanej rośliny.

Odnosząc się do przeprowadzonych badań, a także niezależnie od ogólnie pozytywnej oceny pracy proszę Doktorantkę o ustosunkowanie się/dyskusję do powyższych kwestii podczas obrony publicznej.

Podsumowanie

Doktorantka podjęła i prawidłowo przeprowadziła uporządkowaną dyskusję wyników, która jest nacechowana obiektywizmem naukowym, świadczy o wnikliwym przeglądzie piśmiennictwa jakiego dokonała. Widoczne jest ostrożne i wyważone wnioskowanie na temat wykazanych zależności i relacji, co świadczy o dużej dojrzałości naukowej i doświadczeniu badacza.

Podsumowując, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska przygotowana została w nowym trybie w oparciu o trzy spójne tematycznie artykuły naukowe z Listy Filadelfijskiej. Poszerzają one w sposób istotny wiedzę o molekularnych mechanizmach chemoprewencji i przeciwnowotworowych właściwościach kapusty głowiastej, co niewątpliwie może przyczynić się do poprawy profilaktyki żywieniowej i dietoterapii nowotworów raka prostaty. Zaprezentowane ostateczne stwierdzenia i wnioski końcowe są interesujące z punktu widzenia poznawczego a problem badawczy podjęty przez Doktorantkę ma ważne znaczenie naukowe, duży potencjał eksploracyjny i realne zastosowanie w dietetyce klinicznej i dietoterapii nowotworu prostaty. Po wnikliwej lekturze dysertacji Pani mgr Marioli Drozdowskiej oceniam ją bardzo wysoko.

Wniosek końcowy

Niniejszym po zapoznaniu się z przedstawioną do oceny pracą doktorską Doktorantki Pani Marioli Drozdowskiej pt. "Badania in vitro przeciwnowotworowych właściwości młodych pędów kapusty głowiastej czerwonej (*Brassica oleracea* f. *rubra*) na ludzkich liniach komórkowych gruczołu krokowego" stwierdzam, że w pełni spełnia ona wszelkie wymogi formalne stawiane tego typu opracowaniom zgodnie z art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14.03.2003 (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zm.) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz o przepisach zmieniających ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 3 lipca 2018 roku (Dz.U. z 2018 pozycja 1669). W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Naukowej Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugo Kołłątaja w Krakowie wniosek o dopuszczenie mgr Marioli Drozdowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wysoka ocena merytoryczna rozprawy, ilość i rzetelność badań i analiz, jakość publikacji w renomowanych czasopismach w świetle dorobku naukowego Doktorantki, skłaniają

mnie do wystąpienia z wnioskiem do Wysokiej Rady Dyscypliny Naukowej Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugo Kołłątaja w Krakowie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Marioli Drozdowskiej.

Małgorzata Mętyka.