

Łódź, 31.08.2026

dr hab. n. farm. Izabela Grzegorzczak-Karolak, prof. UM
Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Adrianny Gielecińskiej zatytułowanej: „**Charakterystyka potencjału przeciwnowotworowego kwasu roburowego**” wykonanej w Katedrze Biotechnologii Molekularnej i Genetyki Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem promotora dr hab. Renaty Kontek, prof. UŁ.

Problematyka podjęta w Rozprawie

Celem rozprawy doktorskiej była ocena potencjału biologicznego kwasu roburowego (RA), tetracyklicznego triterpenoidu pochodzenia roślinnego, którego właściwości opisywano dotychczas przede wszystkim w kontekście działania przeciwzapalnego, natomiast jego potencjał przeciwnowotworowy i mechanizmy tego działania pozostawały słabo poznane. W momencie rozpoczęcia badań dostępne dane literaturowe dotyczące RA były nieliczne, co uzasadniało podjęcie kompleksowych badań nad tym związkiem. Celowość podjętych prac bazuje również na współczesnych trendach poszukiwania substancji pochodzenia naturalnego o wielokierunkowej aktywności przeciwnowotworowej.

W ramach rozprawy oceniono wpływ RA na komórki nowotworowe i prawidłowe człowieka, ze szczególnym uwzględnieniem jego działania antyproliferacyjnego oraz wpływu na procesy regulujące funkcjonowanie komórki. Istotnym elementem badań było określenie mechanizmów odpowiedzialnych za obserwowane efekty biologiczne, w tym udziału w przebiegu cyklu komórkowego, regulowanej śmierci komórkowej oraz wybranych szlaków sygnalizacyjnych. Takie podejście pozwoliło wyjść poza ocenę samego efektu cytotoksycznego i określić sposób oddziaływania RA na podstawowe procesy decydujące o proliferacji i przeżyciu komórek

nowotworowych. Uzupełnieniem badań eksperymentalnych były analizy *in silico*, umożliwiające wskazanie potencjalnych celów molekularnych. Tym samym podjęte badania miały na celu nie tylko określenie aktywności biologicznej RA, ale również poszerzenie wiedzy dotyczącej mechanizmów jego działania i ocenę jego potencjału jako związku o możliwym znaczeniu w badaniach nad nowymi strategiami przeciwnowotworowymi.

Temat rozprawy należy zatem uznać za aktualny, trafnie dobrany i posiadający istotny potencjał poznawczy oraz przyszłościowy potencjał aplikacyjny, szczególnie w kontekście poszukiwania nowych substancji pochodzenia naturalnego, które mogłyby stanowić punkt wyjścia do dalszych badań.

Ocena formalna Rozprawy

W skład recenzowanej rozprawy doktorskiej wchodzi cztery prace: trzy opublikowane i jedna wysłana do redakcji czasopisma przy czym jedna z nich to praca przeglądowa, a trzy to prace oryginalne. Sumaryczny IF (Journal Citation Reports) cyklu, zgodny z rokiem publikacji na dzień złożenia rozprawy, jest równy **14,9**, zaś punktacja MNiSW wynosi **420**. Są to następujące pozycje:

1. **Gielecińska A.**, Kciuk M., Mujwar S., Celik I., Kołat D., Kałuzińska-Kołat Ż., Kontek R., Substances of Natural Origin in Medicine: Plants vs. Cancer. Cells. 2023, 12(7):986. IF: 5.1; punkty MEiN: 140 pkt.
2. **Gielecińska A.**, Kciuk M., Mujwar S., Schmid J.A., Kontek R. Anticancer Activity of Roburic Acid: In Vitro and In Silico Investigation. International Journal of Molecular Sciences. 2025, 26(13):6420. IF: 4.9; punkty MEiN:140 pkt.
3. **Gielecińska A.**, Kciuk M., Gruszka R., Wawrocki S., Kontek R. Roburic Acid as a Therapeutic Candidate: Antiproliferative Activity and Secondary Cell Death Response in Colorectal Cancer Cells. International Journal of Molecular Sciences. 2026, 27(5):2478. IF: 4.9; punkty MNiSzW: 140 pkt.
4. **Gielecińska A.**, Wawrocki S., Marciniak B., Kciuk M., Kontek R. Revisiting Apoptosis: What Lies Behind the Antiproliferative Activity of Roburic Acid in Colorectal Cancer Cells? 2026. manuskrypt wysłany do czasopisma.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w układzie typowym dla rozprawy opartej na cyklu publikacji naukowych i obejmuje wszystkie zasadnicze elementy wymagane dla tego typu opracowania: wprowadzenie, cel i hipotezę badawczą, materiały i metody, omówienie publikacji, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz bibliografię. Część zasadniczą uzupełniają informacje dotyczące finansowania i współpracy naukowej, wykaz dorobku naukowego Doktorantki, oświadczenia współautorów oraz kopie publikacji stanowiących podstawę rozprawy. **Pod względem formalnym rozprawa została przygotowana prawidłowo i jej struktura i kompletność dokumentacji nie budzą zastrzeżeń.**

Trzy opublikowane prace naukowe oraz jeden manuskrypt skierowany do druku tworzą spójny i konsekwentnie rozwijany cykl tematyczny dotyczący aktywności przeciwnowotworowej kwasu roburowego oraz mechanizmów odpowiedzialnych za jego działanie w komórkach nowotworowych. **We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, a w jednej pełni też funkcję autora korespondencyjnego.** Konstrukcja cyklu pozwala prześledzić logiczny rozwój projektu badawczego - od przedstawienia stanu wiedzy i identyfikacji luki badawczej, poprzez charakterystykę aktywności biologicznej RA, aż po pogłębioną analizę mechanizmów jego działania.

Rozprawa została przygotowana w sposób logiczny, przejrzysty i uporządkowany, a prezentacja wyników jest czytelna i konsekwentnie podporządkowana realizacji założonego celu badawczego. Dyskusja wyników prawidłowo odnosi uzyskane rezultaty do danych literaturowych, ukazując zarówno ich znaczenie w kontekście dotychczasowego stanu wiedzy, jak i wynikające z nich kierunki dalszych badań. Na podkreślenie zasługuje również wysoki poziom języka naukowego i staranność redakcyjna opracowania.

Ze względu na wieloautorski charakter publikacji do rozprawy dołączono stosowne oświadczenia współautorów dotyczące ich udziału w badaniach. **Z przedstawionych oświadczeń wynika wiodący udział Doktorantki w realizacji badań oraz przygotowaniu i redakcji manuskryptów stanowiących podstawę rozprawy.** Doktorantka uczestniczyła ponadto w opracowaniu metodologii, analizie i interpretacji wyników. Jednak, dla zachowania pełnej zgodności z dokumentacją, udział Doktorantki w zakresie koncepcji prac należało określić jako współtworzenie, a nie tworzenie koncepcji badań, zgodnie z treścią pozostałych oświadczeń współautorów.

Ocena merytoryczna Rozprawy

Cykl otwiera praca przeglądowa opublikowana w czasopiśmie *Cells*, w której Doktorantka przedstawiła aktualny stan wiedzy dotyczący znaczenia związków pochodzenia naturalnego w terapii nowotworów. Szczególną uwagę poświęcono związkom o wielokierunkowym działaniu biologicznym wskazując jednocześnie na bardzo ograniczony stan wiedzy dotyczący aktywności przeciwnowotworowej kwasu roburowego.

W pierwszej pracy oryginalnej, Doktorantka przeprowadziła wieloaspektową ocenę aktywności przeciwnowotworowej RA z wykorzystaniem różnych modeli komórkowych. Wykazała zróżnicowaną, zależną od stężenia i czasu ekspozycji odpowiedź badanych komórek oraz szczególną wrażliwość wybranych linii nowotworowych, co pozwoliło na ukierunkowanie dalszych badań na komórki raka jelita grubego. Istotną wartością tej pracy było zastosowanie kilku niezależnych metod oceny odpowiedzi komórkowej oraz uzupełnienie badań eksperymentalnych analizami *in silico*. Pozwoliło to nie tylko potwierdzić aktywność biologiczną RA, ale również sformułować pierwsze hipotezy dotyczące mechanizmu działania badanego związku.

Kolejna publikacja stanowi logiczne rozwinięcie wcześniejszych badań i koncentruje się na charakterystyce odpowiedzi komórek na działanie RA. Szczególnie istotnym osiągnięciem było wykazanie, że zasadniczym efektem działania związku jest zahamowanie proliferacji komórek, któremu może towarzyszyć wtórna odpowiedź związana ze śmiercią komórkową. Jednocześnie Doktorantka wykazała brak istotnego udziału nasilonego stresu oksydacyjnego oraz uszkodzeń DNA w obserwowanej odpowiedzi.

Dużą wartością poznawczą charakteryzuje się również czwarty manuskrypt, będący naturalną kontynuacją wcześniejszych badań i próbą wyjaśnienia mechanizmów odpowiedzialnych za obserwowany efekt antyproliferacyjny. Doktorantka wykazała, że zahamowanie proliferacji komórek przez RA nie jest związane z aktywacją klasycznych szlaków regulowanej śmierci komórkowej, ani z indukcją senescencji. Jednocześnie uzyskane wyniki wskazują na udział osi TP53-p21 w regulacji odpowiedzi komórkowej. W mojej ocenie jest to szczególnie wartościowy element rozprawy, ponieważ pozwala odejść od prostego określania RA jako związku „cytotoksycznego” i wskazuje na jego bardziej złożone działanie cytostatyczne.

W mojej ocenie, **cele rozprawy zostały zrealizowane**. Doktorantka wykazała działanie hamujące proliferację komórek nowotworowych, scharakteryzowała charakter tej odpowiedzi oraz dostarczyła danych pozwalających na wskazanie potencjalnych mechanizmów molekularnych. Szczególnie interesujące jest wykazanie zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G0/G1, któremu towarzyszy zmiana poziomu i lokalizacji białka p21 i spadek ekspresji markerów proliferacji. Równocześnie brak istotnej genotoksyczności i uszkodzeń DNA w zastosowanych warunkach stanowi ważną informację uzupełniającą charakterystykę biologicznego działania RA.

Na szczególne podkreślenie zasługuje **logiczny postęp programu badawczego**. **Kolejne publikacje nie stanowią niezależnych opracowań, lecz wzajemnie się uzupełniają: od analizy stanu wiedzy i identyfikacji luki badawczej, poprzez wykazanie aktywności biologicznej RA, określenie charakteru odpowiedzi komórkowej, aż do próby wskazania mechanizmów molekularnych leżących u jej podstaw**. Taka konstrukcja rozprawy świadczy o umiejętnym planowaniu badań, właściwym formułowaniu kolejnych pytań badawczych oraz krytycznym wykorzystaniu wyników uzyskanych na wcześniejszych etapach projektu.

Za mocną stroną rozprawy należy uznać również **szeroki i komplementarny warsztat badawczy**. Zastosowane metody obejmowały techniki spektrofotometryczne, fluorescencyjne, cytometryczne, testy funkcjonalne, immunofluorescencję, analizy ekspresji genów, a także metody *in silico*. Pozwoliło to ocenić nie tylko cytotoksyczność i działanie antyproliferacyjne RA, lecz także jego wpływ na cykl komórkowy, regulowaną śmierć komórkową, stres oksydacyjny, senescencję oraz wybrane mechanizmy regulacji proliferacji. Na szczególne uznanie zasługuje wykorzystanie niezależnych metod do weryfikacji tych samych obserwacji biologicznych, co zwiększa wiarygodność prezentowanych wyników.

Wartość naukową rozprawy potwierdza również wysoki łączny Impact Factor trzech opublikowanych prac wchodzących w skład rozprawy. Wyniki zostały zatem poddane ocenie w międzynarodowym systemie i spotkały się z pozytywną oceną redakcji oraz recenzentów.

W tym miejscu, warto podkreślić, że na wysoką ocenę zasługuje również całokształt dorobku naukowego Doktorantki. **Obejmuje on 22 publikacje naukowe, opublikowane w renomowanych czasopismach międzynarodowych, o łącznym współczynniku oddziaływania 115,518 i łącznej punktacji 3040 punktów MNiSW**. O dojrzałości naukowej Doktorantki świadczy również h-index wynoszący 14 oraz ponad 1000 cytowań. Na podkreślenie zasługuje

także jej udział w zagranicznych stażach naukowych, aktywność konferencyjna, działalność organizacyjna i popularyzatorska oraz uzyskane nagrody i wyróżnienia. Całokształt tych osiągnięć wskazuje na wysoką aktywność naukową, rozwijający się dorobek publikacyjny oraz ukształtowaną dojrzałość badawczą Doktorantki.

Jeśli chodzi o uwagi krytyczne: muszę stwierdzić, że rozprawa została przygotowana bardzo starannie i trudno wskazać kwestie, które mogłyby obniżyć jej ocenę. Zauważone przeze mnie drobne uchybienia mają charakter przede wszystkim terminologiczny lub formalny i nie mają wpływu na wartość naukową przedstawionych w niej wyników. Przykładowo, w kilku miejscach RA określany jest jako „lek”, podczas gdy na obecnym etapie badań jest on tylko związkiem badanym pod kątem potencjalnej aktywności biologicznej, a nie substancją leczniczą. Ponadto, w odniesieniu do manuskryptu dopiero wysłanego do redakcji unikałabym przypisywania mu punktacji ministerialnej i Impact Factor do czasu opublikowania.

Natomiast, podczas analizy przedłożonej mi rozprawy nasunęły mi się pytania, które chciałabym skierować do Doktorantki z prośbą o ustosunkowanie się do nich podczas publicznej obrony. Nie wynikają one z braków rozprawy, lecz są elementem dyskusji nad perspektywicznością uzyskanych wyników.

1. Czy na podstawie wstępnie określonego mechanizmu działania kwasu roburowego Doktorantka mogłaby wskazać naturalny związek o działaniu cytostatycznym o zbliżonym profilu biologicznym? Do jakiej grupy związków wydaje się najbardziej podobny kwas roburowy pod względem funkcjonalnym?
2. Czy zastosowane w badaniach stężenia RA można uznać za wysokie z punktu widzenia potencjalnego zastosowania biologicznego? Czy na podstawie obecnego stanu wiedzy można przewidywać możliwość osiągnięcia takich stężeń *in vivo*? Jakie znaczenie dla dalszej oceny potencjału RA miałoby określenie jego biodostępności, farmakokinetyki i dystrybucji tkankowej?
3. Uzyskane wyniki wskazują na działanie cytostatyczne RA przy jednoczesnym braku wyraźnej indukcji klasycznych szlaków regulowanej śmierci komórkowej. Czy samo działanie antyproliferacyjne, bez wyraźnego efektu cytotoksycznego, stanowi wystarczającą podstawę do dalszych badań nad przeciwnowotworowym potencjałem RA? Czy w świetle

obecnego stanu wiedzy nie bardziej uzasadnione byłoby skoncentrowanie dalszych badań na jego potwierdzonym działaniu przeciwzapalnym? A może potencjału terapeutycznego RA należałoby poszukiwać w zakresie wspomagania istniejących strategii leczenia?

4. Czy mechanizm działania RA, oparty na aktywności antyproliferacyjnej, a nie na bezpośredniej cytotoksyczności, może stwarzać możliwość zastosowania tego związku w terapiach skojarzonych z klasycznymi lekami przeciwnowotworowymi? Jeżeli tak, jakie grupy cytostatyków Doktorantka uznałaby za najbardziej uzasadnione do dalszych badań i jakie mechanizmy mogłyby odpowiadać za potencjalny efekt addytywny lub synergistyczny?

Wnioski końcowe

Podsumowując, wysoko oceniam przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską, która stanowi oryginalne i wartościowe opracowanie naukowe, wnoszące nowe informacje do wiedzy dotyczącej biologicznej aktywności kwasu roburowego. Doktorantka wykazała się dojrzałością naukową, umiejętnością samodzielnego planowania, prowadzenia badań, właściwego doboru metod oraz krytycznej analizy i interpretacji uzyskanych wyników. Na uwagę zasługuje też znaczący jak na obecny etap kariery naukowej, całkowity dorobek Doktorantki.

W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pt: **„Charakterystyka potencjału przeciwnowotworowego kwasu roburowego”** jest oryginalnym dorobkiem Pani mgr Adrianny Gielecińskiej i spełnia określone dla rozpraw doktorskich warunki Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. **Na tej podstawie wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie rozprawy mgr Adrianny Gielecińskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.**

Jednocześnie ze względu na wysoki poziom naukowy przedstawionej mi do oceny dysertacji i jej wkład w rozwój reprezentowanej dziedziny badawczej wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Adrianny Gielecińskiej.

Przekazana mi do oceny rozprawa doktorska wyróżnia się **wysokim poziomem merytorycznym, oryginalnością podjętego problemu badawczego oraz kompleksowym i nowatorskim podejściem metodologicznym**. Na szczególne podkreślenie zasługuje konsekwentna realizacja spójnego programu badawczego, prowadzącego od określenia celu badania i jego zasadności do szczegółowej charakterystyki działania kwasu roburowego w komórkach nowotworowych i analizy mechanizmów odpowiedzialnych za obserwowane efekty. Zastosowanie szerokiego, komplementarnego zestawu metod i narzędzi badawczych umożliwiło wielostronną weryfikację uzyskanych wyników i przyczyniło się do nadania rozprawie **istotnych walorów poznawczych**. Dodatkowym argumentem przemawiającym za wyróżnieniem jest fakt, że wyniki stanowiące przedmiot rozprawy zostały już **opublikowane w trzech pracach naukowych o łącznej punktacji ministerstwa 420 i IF wynoszącym 14.9**, a znaczący całkowity dorobek publikacyjny Doktorantki dodatkowo potwierdza wysoką jakość i znaczenie prowadzonych przez nią badań. W mojej ocenie połączenie oryginalności problemu, wysokiego poziomu merytorycznego, nowatorskiego podejścia badawczego, istotnych walorów poznawczych oraz potwierdzonej publikacjami wartości uzyskanych wyników w pełni uzasadnia wyróżnienie rozprawy.

KIEROWNIK
Zakładu Biologii i Botaniki Farmaceutycznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Izabela Grzegorzczak-Karolak
dr hab. n. farm. Izabela Grzegorzczak-Karolak
profesor uczelni