Olsztyn, 20 października 2015 r.

Prof. dr hab. Jan Jankowski
Katedra Drobiarstwa
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr Marty Kutwin pt. „Wpływ nanocząsteczek platyny Pt $^{(0)}$ na stan morfologiczno funkcjonalny wybranych komórek zwierząt modelowych i komórek glejaka wielopostaciowego łac. Glioblastoma multiforme" wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Sawosz Chwalibóg w Katedrze Żywienia i Biotechnologii Zwierząt, przedstawionej Radzie Wydziału Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Oceniana rozprawa stanowi spójny tematycznie zbiór trzech oryginalnych prac twórczych, w tym 2 opublikowanych oraz 1 przyjętej do druku:

1. **Prasek M.**, Sawosz E., Jaworski S., Grodzik M., Ostaszewska T., Komaszewski M., Wierzbicki M., Chwalibog A. Influence of nanoparticles of platinum on chicken embryo development and brain morphology. Nanoscale Research Letters, 2013, 8, 251. DOI: 10.1186/1556-276X-8-251.
   IF = 2,481 (30 pkt)

2. **Kutwin M.**, Sawosz E., Jaworski S., Kurantowicz N., Strojny B., Chwalibog A. Structural damage of chicken red blood cells exposed to platinum nanoparticles and cisplatin. Nanoscale Research Letters, 2014, DOI: 10.1186/1556-276X-9-257.
   IF = 2,481 (30 pkt)

3. **Kutwin M.**, Sawosz E., Jaworski S., Wierzbicki M., Hinzmann M., Grodzik M., Winnicka A., Chwalibog A. Investigation of Platinum nanoparticles properties aganist U87 Glioblastoma multiforme. Archives of Medical Science. Przyjęta do druku.
IF = 2,030 (25 pkt)

We wszystkich publikacjach Doktorantka (z domu Prasek) jest pierwszym autorem, a deklarowany udział, potwierdzony przez wszystkich współautorów, wynosił od 50 do 65%. W jednej publikacji mgr Marta Kutwin jest autorem korespondującym. Na szczególne podkreślenie zasługują wysokie wartości współczynników wpływu czasopism publikujących oceniane prace (sumaryczna wartość IF=6,6992) przekładająca się na wysoką liczbę punktów w ocenie MNiSW (łącznie 85 pkt.). W przypadku pracy nr 3 dołączono pismo redaktora naczelnego z dnia 30 września br. potwierdzającego przyjęcie pracy do druku. Sytuację taką dopuszcza obowiązujące prawo.

Podmiotowe publikacje uzupełniono polskojęzycznym tekstem obejmującym wstęp, hipotezę badawczą, opis zakresu badań, omówienie najważniejszych wyników przeprowadzonych doświadczeń oraz podsumowanie i wnioski. Do rozprawy załączono oświadczenia Doktorantki i wszystkich współautorów dotyczących procentowego udziału w publikacjach. W każdej publikacji jako *Acknowledgments,* zamieszczono informację, że jest ona częścią pracy doktorskiej Marty Kutwin. Mając powyższe na uwadze stwierdzam, że formalna strona przedstawionej rozprawy nie budzi żadnych zastrzeżeń.

Ocena merytoryczna

Glejak wielopostaciowy jest jednym z najgroźniejszych nowotworów u ludzi. Występuje także u zwierząt gospodarskich oraz u psów i kotów. Pozornie może wyglądać, że zagadnienia analizowane w ocenianej pracy mieszczą się tylko w dziedzinie nauk medycznych lub nauk weterynaryjnych. Jednak zastosowane w pracy modele badawcze, a szczególnie wykorzystanie zarodków kurzych, pozwalają na umiejscowienie tej pracy w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie zootechnika. Granice między poszczególnymi dziedzinami i dyscyplinami nauk są tylko umowne i coraz większego znaczenia nabierają badania interdyscyplinarne.

Podjęcie badań opisywanych w ocenianej rozprawie uważam za w pełni uzasadnione. Można je zaliczyć do grupy badań poszukujących alternatywnych metod terapii nowotworów, z zastosowaniem modelu zwierzęcia. W tym zakresie zespól badawczy kierowany przez prof. dr hab. Ewę Sawosz Chwalibóg ma już wymierne osiągnięcia. W polskojęzycznym wstępie

oraz w rozdziałach *Background* lub *Introduction* poszczególnych publikacji Doktorantka także przekonywująco uzasadnia podjęcie opisywanych badań.

Hipotezy badawcze weryfikowane w badaniach opisywanych w poszczególnych pracach są sformułowane jasno i precyzyjnie. Doktorantka, co jest szczególnie istotne, sformułowała także w polskojęzycznej części opisowej hipotezę badawczą wspólną dla wszystkich doświadczeń. Jak podaje dalej Autorka, *„Celem pracy było zbadanie wpływu nanocząsteczek platyny na stan morfologiczny, funkcjonalny i molekularny komórek, tkanek i organizmów oraz komórek i tkanki guza glejaka wielopostaciowego ze szczególnym uwzględnieniem aktywacji szlaków sygnalnych procesów programowanej śmierci komórki na drodze apoptozy"*. Biorąc pod uwagę szeroki zakres badań i liczbę wykonanych doświadczeń, takie sformułowanie celu wspólnego dla wszystkich publikacji należy uznać za bardzo trafne i precyzyjne.

Badania przeprowadzono na zarodkach kurzych, na komórkach krwi kury, w hodowli in vitro komórek glejaka oraz modelu glejaka indukowanego na błonie kosmówkowo-omoczniowej zarodka kury. Obejmowały one:

- określenie toksyczności nanocząstek platyny dla zarodków kury w zakresie analizy przeżywalności, parametrów biochemicznych krwi, oceny zmian rozwojowych ze szczególnym uwzględnieniem działania neurotoksycznego oraz analizy poziomu aktywacji szlaków sygnalnych programowanej śmierci komórki na drodze apoptozy w komórkach kory mózgowej;
- ocenę hemotoksyczności nanocząstek platyny w porównaniu z cisplatyną, na modelu komórek erytrocytów zarodka kury poprzez analizę właściwości hemolitycznych oraz zmian morfologicznych erytrocytów;
- określenie potencjalnych właściwości antynowotworowych nanocząstek platyny w porównaniu z cisplatyną na modelu *in vitro* glejaka wielopostaciowego linii U87 oraz hodowli modelu *in ovo* guzów glejaka wielopostaciowego tej samej linii w zakresie analizy aktywności metabolicznej, stopnia proliferacji, działania genotoksycznego, aktywacji szlaków sygnalnych programowanej śmierci komórki na drodze apoptozy oraz ekspresji genów związanych z aktywacją szlaków sygnalnych apoptozy.

Układ przeprowadzonych doświadczeń, liczba obserwacji oraz zastosowane bardzo nowoczesne metody analityczne, pozwoliły na pełną realizację założonych celów. Poprawność zastosowanych procedur doświadczalnych została także zweryfikowana pozytywnie w procesach wydawniczych 3 podmiotowych publikacji.

Za najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań uważam:

- stwierdzenie, że nanocząstki platyny wprowadzone do zarodka kury wywołują spadek proliferacji oraz aktywację szlaków sygnalnych apoptozy w komórkach kory mózgowej, przy niewielkim poziomie toksyczności ogólnoustrojowej;
- wykazanie wpływu nanocząstek platyny na wzrost nasilenia zmian patomorfologicznych w mitochondrium komórek glejaka, co w konsekwencji powodowało spadek tempa metabolizmu i proliferacji oraz aktywację szlaków sygnalnych apoptozy w komórkach glejaka.

W polskojęzycznym opracowaniu syntezę wyników badań przedstawiono w dwóch rozdziałach: 9. *Podsumowanie* i 10. *Wnioski*. W mojej opinii rozdziały te można było połączyć w jeden. Prezentowane w rozdziale *Wnioski* stwierdzenia są raczej streszczeniem wyników niż wnioskami.

W opisie modeli biologicznych (str. 24) Doktorantka dwukrotnie podaje informację: „Zapłodnione jaja kurze … zakupione z certyfikowanej fermy drobiu…". Jaką metodą badano zapłodnienie jaj przy ich zakupie i jaki certyfikat posiadała ferma będąca miejscem zakupu jaj? W tym samym podrozdziale znalazła się informacja: „W pierwszym dniu inkubacji koloidy … zostały poddane *in ovo* do albuminy zarodka kury". Co to jest „albumina zarodka kury"?

Podsumowanie

Dysertację doktorską mgr Marty Kutwin pt." **Wpływ nanocząsteczek platyny Pt $^{(0)}$ na stan morfologiczno funkcjonalny wybranych komórek zwierząt modelowych i komórek glejaka wielopostaciowego łac. Glioblastoma multiforme"**, będącą podsumowaniem czterech przeprowadzonych doświadczeń, oceniam bardzo wysoko. Szeroki zakres bardzo specjalistycznych i skomplikowanych badań mógł być zrealizowany tylko w wieloosobowym zespole. W badaniach zastosowano nowoczesne modele i metody badawcze pozwalające na uzyskanie wiarygodnych wyników, dotyczących wykorzystania nanocząsteczek platyny w terapii jednego z najgroźniejszych nowotworów. Publikacje naukowe stanowiące podstawę dysertacji są bardzo cennym źródłem wiedzy, zarówno w aspekcie naukowym jak i aplikacyjnym

Reasumując stwierdzam, że oceniana praca w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim określonym w ustawie z dnia 14. marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresu sztuki (Dz. U. Nr 65,

poz. 59, Dz. U. z 2005 nr 164, poz. 1365 oraz Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455). Dlatego też, z pełnym przekonaniem przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr Marty Kutwin do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Chcąc podkreślić wysoką wartość naukową ocenianej rozprawy, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Jan Jankowski