



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Kraków, 13 sierpnia 2026 r

WYDZIAŁ BIOCHEMII, BIOFIZYKI I BIOTECHNOLOGII

Zakład Biochemii Ogólnej
dr hab. Katarzyna Miękus, prof. UJ

Recenzja rozprawy doktorskiej pani mgr Adrianny Gielecińskiej pt. „Charakterystyka potencjału przeciwnowotworowego kwasu roburowego”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani mgr **Adrianny Gielecińskiej pt. „Charakterystyka potencjału przeciwnowotworowego kwasu roburowego”**, została wykonana pod kierunkiem **dr hab. Renaty Kontek, prof. UŁ** w Katedrze Biotechnologii Molekularnej i Genetyki, Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Formalny opis rozprawy

Na osiągnięcie naukowe składają się trzy opublikowane artykuły naukowe oraz jeden manuskrypt, który w momencie przedłożenia rozprawy do oceny nie był jeszcze opublikowany, Prace te są poświęcone badaniom nad biologiczną aktywnością kwasu roburowego, ze szczególnym uwzględnieniem jego wpływu na proliferację, przeżywalność oraz mechanizmy regulacyjne komórek nowotworowych. Publikacje uzupełnia opracowanie przygotowane przez Doktorantkę, obejmujące wprowadzenie, cel pracy i hipotezę badawczą, opis materiałów i metod, omówienie wyników, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spis literatury liczący 45 pozycji. Ponadto zamieszczono informacje dotyczące źródeł finansowania badań, współpracy naukowej związanej z realizacją rozprawy oraz dorobku naukowego Doktorantki. Do rozprawy dołączono kopie trzech artykułów (opublikowanych w latach 2023-2026), a także kopię manuskryptu wysłanego do czasopisma Phytomedicine, oraz oświadczenia współautorów i Doktorantki. Rozprawa została przygotowana w języku polskim. Na podstawie informacji zawartych w publikacjach oraz oświadczeń Doktorantki i współautorów stwierdzam, że Doktorantka odegrała wiodącą rolę w przygotowaniu wszystkich prac wchodzących w skład rozprawy. W przedstawionych oświadczeniach określiła swój wkład w planowanie i realizację doświadczeń, analizę wyników oraz przygotowanie manuskryptów na

poziomie 75-80%. Wskazuje to na znaczący wkład Doktorantki zarówno w realizację badań jak i przygotowanie publikacji.

Rezultaty będące przedmiotem dysertacji ujęto w następujących pracach opublikowanych w czasopismach z listy Journal Citation Reports (JCR):

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 Mar 23;12(7):986. doi: 10.3390/cells12070986.
2. Gielecińska A, Kciuk M, Mujwar S, Schmid JA, Kontek R. Anticancer Activity of Roburic Acid: In Vitro and In Silico Investigation. *Int J Mol Sci*. 2025 Jul 3;26(13):6420. doi: 10.3390/ijms26136420
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. *Int J Mol Sci*. 2026 Mar 8;27(5):2478. doi: 10.3390/ijms27052478.

Oraz manuskrypcie dotychczas nieopublikowanym:

Gielecińska A., Wawrocki S., Marciniak B., Kciuk M., Kontek R. Apoptosis: What Lies Behind the Antiproliferative Activity of Roburic Acid in Colorectal Cancer Cells?

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa spełnia wymagania formalne stawiane pracom doktorskim przygotowanym w formie cyklu publikacji.

Ocena merytoryczna pracy

Prezentowana rozprawa doktorska dotyczy aktualnej i interesującej problematyki poszukiwania nowych związków o potencjalnym zastosowaniu przeciwnowotworowym. Przedmiotem badań był kwas roburowy, naturalny triterpenoid, którego aktywność biologiczna, a zwłaszcza potencjał przeciwnowotworowy, pozostają dotychczas stosunkowo słabo poznane. Podjęta przez Doktorantkę tematyka jest zatem dobrze uzasadniona. Cel pracy obejmował kompleksową ocenę aktywności biologicznej kwasu roburowego oraz identyfikację mechanizmów odpowiedzialnych za jego działanie w komórkach nowotworowych. Był on uzasadniony zarówno ograniczoną liczbą dostępnych doniesień dotyczących

przeciwnowotworowej aktywności kwasu roburowego, jak i rosnącym zainteresowaniem naturalnymi związkami o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym. Do realizacji celu pracy wykorzystano panel metod pozwalających na ocenę właściwości cytotoksycznych i antyproliferacyjnych kwasu roburowego, jego wpływu na cykl komórkowy, procesy śmierci komórkowej, uszkodzenia DNA, stres oksydacyjny oraz wybrane szlaki regulacyjne. Badania eksperymentalne uzupełniono analizami *in silico* dotyczącymi właściwości farmakokinetycznych oraz potencjalnych celów molekularnych badanego związku.

W pracy przeglądowej wchodzącej w skład cyklu publikacji Autorka przedstawiła aktualny stan wiedzy dotyczący wykorzystania związków pochodzenia naturalnego w terapii przeciwnowotworowej, ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów ich działania, zastosowań klinicznych oraz potencjału translacyjnego. Istotnym elementem opracowania było również omówienie dostępnych danych dotyczących kwasu roburowego, co pozwoliło na wskazanie aktualnego stanu wiedzy w tym zakresie oraz uzasadniło podjęcie dalszych badań. Praca stanowi wartościowe opracowanie i dobre wprowadzenie do problematyki badawczej. W części eksperymentalnej rozprawy oceniono wpływ kwasu roburowego na komórki nowotworowe i prawidłowe człowieka oraz przeanalizowano jego wpływ na proliferację, cykl komórkowy, procesy śmierci komórkowej, integralność DNA i stres oksydacyjny. Uzyskane wyniki wykazały, że kwas roburowy działa przede wszystkim antyproliferacyjnie, prowadząc do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G0/G1, natomiast indukcja apoptozy ma charakter ograniczony i obserwowana jest głównie przy wyższych stężeniach związku. Uzyskane wyniki wskazały, że kwas roburowy nie wykazuje działania genotoksycznego i nie indukuje stresu oksydacyjnego.

Cykl publikacji tworzy spójną całość tematyczną i konsekwentnie rozwija zagadnienie biologicznej aktywności kwasu roburowego. Do najważniejszych osiągnięć rozprawy należy wykazanie antyproliferacyjnej aktywności kwasu roburowego wobec komórek raka jelita grubego oraz charakterystyka biologicznych skutków działania tego związku. Uzyskane wyniki poszerzają wiedzę na temat właściwości kwasu roburowego, który pozostaje związkiem stosunkowo słabo scharakteryzowanym. Niewątpliwą zaletą pracy jest wykorzystanie szeregu metod badawczych pozwalających na ocenę skutków działania kwasu roburowego. Takie podejście umożliwiło jednoznaczne wykazanie jego aktywności antyproliferacyjnej.

Jednocześnie należy zauważyć, że pomimo szerokiego zakresu przeprowadzonych badań większość zastosowanych metod prowadzi do potwierdzenia tego samego efektu biologicznego, a w mniejszym stopniu przyczynia się do wyjaśnienia jego molekularnego podłoża. W konsekwencji część przedstawionych w rozprawie mechanizmów ma charakter postulowany i opiera się głównie na przesłankach pośrednich. Dotyczy to zwłaszcza interpretacji związanych z rolą szlaku NF- κ B, którego aktywność oceniano jedynie w reporterowej linii komórek śródbłonna naczyń krwionośnych, a także udziału białek p53 i p21, dla których uzyskane wyniki nie pozwalają na jednoznaczne potwierdzenie ich roli w obserwowanym zatrzymaniu cyklu komórkowego. Również znaczenie potencjalnych celów molekularnych wskazanych w analizach *in silico* nie zostało zweryfikowane doświadczalnie.

Pomimo wskazanych ograniczeń uważam, że przedstawione wyniki stanowią wartościowy wkład w badania nad biologiczną aktywnością kwasu roburowego. Doktorantka wykazała się umiejętnością samodzielnego planowania i prowadzenia badań, krytycznej analizy uzyskanych wyników oraz ich interpretacji w kontekście aktualnego stanu wiedzy. Na pozytywną ocenę zasługuje również przygotowane przez Doktorantkę opracowanie autorskie, które zostało napisane dobrym językiem naukowym, jest przejrzyste, logicznie uporządkowane i dobrze wprowadza czytelnika w tematykę rozprawy.

Pytania i uwagi, na które Recenzent oczekuje odpowiedzi Kandydatki podczas obrony:

Przedstawione powyżej uwagi dotyczą przede wszystkim interpretacji części wyników oraz stopnia udokumentowania proponowanych mechanizmów działania kwasu roburowego. W związku z tym proszę Kandydatkę o odniesienie się do następujących kwestii:

1. W rozprawie zaproponowano udział szlaku NF- κ B w mechanizmie przeciwnowotworowego działania kwasu roburowego. Aktywność NF- κ B oceniano jednak wyłącznie w śródbłonkowych komórkach reporterowych (NF- κ B-TIME) po stymulacji TNF- α , natomiast nie przeprowadzono analogicznych analiz w badanych liniach raka jelita grubego. W związku z tym udział tego szlaku w obserwowanym efekcie antyproliferacyjnym nie został bezpośrednio wykazany. Na jakiej podstawie uznano, że hamowanie aktywności NF- κ B uczestniczy w mechanizmie odpowiedzialnym za zahamowanie proliferacji badanych komórek (DLD-1, HCT-116 i HT-29)? Jakie doświadczenia pozwoliłyby bezpośrednio zweryfikować tę hipotezę?

2. Pewne wątpliwości budzi interpretacja wyników dotyczących białek p53 i p21. We wnioskach rozprawy Autorka wskazuje na znaczenie zmian poziomu i lokalizacji białka p21 w procesie zatrzymania cyklu komórkowego. Jednocześnie uzyskane wyniki wskazują na różnice pomiędzy badanymi liniami komórkowymi, brak jednoznacznej aktywacji p53 oraz dominację sygnału cytoplazmatycznego p21 i p53. Które wyniki uważa Pani za najważniejsze dla uzasadnienia udziału białek p53 i p21 w obserwowanym zatrzymaniu cyklu komórkowego?
3. Wartości IC_{50} uzyskane dla komórek prawidłowych były wyższe niż dla komórek nowotworowych, jednak różnice te po 72 godzinach inkubacji nie były duże. Czy przedstawione wyniki pozwalają uznać kwas roburowy za związek selektywnie działający na komórki nowotworowe?
4. Analizy *in silico* wskazały karboksyloesterazę 1 (CES1) jako jeden z potencjalnych celów molekularnych kwasu roburowego, jednak udział tego białka w działaniu badanego związku nie został zweryfikowany eksperymentalnie. Jakie doświadczenia należałoby przeprowadzić, aby potwierdzić nie tylko samo wiązanie kwasu roburowego z CES1, ale również funkcjonalne znaczenie tej interakcji dla zahamowania proliferacji komórek nowotworowych?
5. Przedstawione wyniki wskazują na współwystępowanie wielu zmian komórkowych po ekspozycji na kwas roburowy. Czy na podstawie uzyskanych danych możliwe jest określenie kolejności tych zdarzeń oraz wskazanie, które z nich stanowią element mechanizmu działania związku, a które są konsekwencją obserwowanego efektu cytostatycznego?

Wniosek końcowy

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz potwierdza wiedzę teoretyczną Kandydatki w zakresie reprezentowanej dyscypliny naukowej, a także jej umiejętność samodzielnego planowania i prowadzenia badań naukowych. Wyniki uzyskane w ramach ocenianej rozprawy zostały opublikowane w trzech artykułach naukowych oraz przedstawione w jednym

manuskrypcie wysłanym do czasopisma. Cele pracy zostały jasno określone, a zastosowane metody badawcze umożliwiły ich realizację. Uzyskane wyniki wnoszą nowe informacje do nadal stosunkowo słabo poznanego obszaru badań nad biologiczną aktywnością kwasu roburowego i stanowią wartościowy wkład w rozwój wiedzy na temat tego związku. Przedstawione w recenzji uwagi i pytania odnoszą się przede wszystkim do interpretacji części wyników oraz zakresu, w jakim uzyskane dane uzasadniają proponowany model mechanizmu działania kwasu roburowego, nie wpływają jednak na moją pozytywną ocenę rozprawy.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Adrianny Gielecińskiej spełnia wymogi określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) stawiane rozprawom doktorskim. W związku z powyższym wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

dr hab. Katarzyna Miękus, prof. UJ

Podpisany elektronicznie przez
Katarzyna Miękus
13.08.2026
14:30:57 +02'00'