



# UNIwersytet Medyczny IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

## Katedra i Zakład Toksykologii

Kierownik: prof. dr hab. Agnieszka Piwowar

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Kingi Urbanek  
pt. „Mykotoksyny jako modulatory szlaków syntezy hormonów steroidowych”  
w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych  
i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska dotyczy badań wpływu dwóch mykotoksyn - deoksyniwalenolu (DON) i alternariolu (AOH), będących zanieczyszczeniami żywności, na modulowanie szlaków syntezy hormonów steroidowych w badaniach modelowych na liniach komórkowych o różnej wrażliwości na androgeny. Dane z piśmiennictwa wskazują, że narażenie na mykotoksyny może wpływać na funkcjonowanie układu rozrodczego, nerwowego, pokarmowego czy immunologicznego oraz pokazują, iż mykotoksyny mogą przyczyniać się do rozwoju niektórych typów nowotworów zarówno u zwierząt jak i ludzi, w tym również nowotworu gruczołu krokowego, działając m.in. jako substancje zaburzające gospodarkę hormonalną. Dlatego też podjęty przez Doktorantkę temat badawczy jest aktualny i ważny i bardzo dobrze wpisuje się w obecne trendy badań naukowych w kontekście wiedzy o znaczącym wpływie składników żywności na homeostazę organizmu, również tym negatywnym, poprzez działanie toksyczne, mutagenne czy kancerogenne.

Praca została wykonana w Zakładzie Hodowli Komórkowych i Analiz Genomowych Wydziału Lekarskiego, Oddział Nauk Biomedycznych, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem Pani prof. dr hab. n. med. Agnieszki Piastowskiej-Ciesielskiej, promotorem pomocniczym jest Pani dr n. med. Karolina Kowalska.

Podstawą ubiegania się przez Panią mgr Kingę Urbanek o nadanie stopnia doktora nauk medycznych jest monotematyczny cykl 3 publikacji, w skład którego wchodzi 1 praca przeglądowa i 2 doświadczalne, opublikowanych w latach 2018, 2021 i 2023, w czasopiśmie z listy MEiN oraz Journal Citation Reports. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Zgodnie z załączonym wykazem bibliometrycznym sumaryczny współczynnik wpływu (IF) tych publikacji wynosi 14,348, a punktacja MEiN to 270 punktów. Udział Pani mgr i innych współautorów w powstawaniu publikacji został określony i potwierdzony w



załączonych do rozprawy oświadczeniach. Wszystkie przedstawione prace posiadają IF powyżej 3, pierwsza z prac, o charakterze poglądowym (z 2018 roku) posiada 30 punktów i 3,065 IF, druga praca (z 2021 roku) oryginalna – 100 punktów i 5,075 IF, trzecia (z 2023 roku) – 140 punktów i 6,208 IF. Dobrym uzupełnieniem rozdziału „Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej” byłoby podanie pod każdą z tych publikacji właściwego dla nich współczynnika wpływu oraz punktacji MEiN. Całkowita punktacja dorobku doktorantki (od 2018 roku), za 16 publikacji, wynosi 1565 punktów, a IF 78,152. Liczba cytowań to 171 cytowań (148 bez autocytowań) wg. Web of Science Core Collection, a Indeks Hirsha wynosi 7. Dane te wskazują na dużą aktywność naukową Pani mgr i bardzo dobrze obrazują Jej rozwój naukowy, a dobrym uzupełnieniem rozprawy byłby choćby krótkie przedstawienie sylwetki Doktorantki.

Przedłożona do oceny rozprawa oparta jest na monotematycznym cyklu 3 publikacji, jednej o charakterze przeglądowym (praca nr 1) oraz dwóch eksperymentalnych (prace nr 2 i 3), gdzie dokonano kompleksowych i wieloprofilowych badań. Rozprawa posiada typowy układ dla tego rodzaju opracowań i wg. spisu treści, składa się z 8 rozdziałów ułożonych w logiczny sposób. Oprócz wykazu 3 publikacji, stanowiących podstawę ubiegania się o stopień dr n. med. przez Panią mgr Kingę Urbanek, oraz kopii tych publikacji, zawiera również oświadczenia wszystkich współautorów określających indywidualny ich wkład w powstawanie tych prac, które wskazują na znaczącą i wiodącą rolę Doktorantki w ich powstawaniu (udział od 30 do 45%). Rola pani mgr polegała na: przeglądzie i wyborze literatury i opracowaniu danych, przygotowaniu i korekcie manuskryptu (praca nr 1) oraz przeprowadzeniu doświadczeń, zebraniu danych, analizie statystycznej oraz przygotowaniu i korekcie manuskryptu (prace nr 2 i 3). Rozprawa zawiera również informacje o pozostałych publikacjach ze współautorstwem Pan mgr, nie wchodzących w skład monotematycznego opracowania, oraz Jej udziału w konferencjach i projektach naukowych. Zawiera także wykaz zastosowanych skrótów, zacytowane w opracowaniu piśmiennictwo, a także streszczenie w języku polskim i angielskim. Najistotniejszymi elementami rozprawy doktorskiej są rozdziały: „Wprowadzenie i uzasadnienie wyboru tematu”, „Cele” „Omówienie publikacji stanowiących cykl” oraz „Wnioski”. W tej części pracy dobrym uzupełnieniem byłoby dołączenie rozdziału z syntetycznym wskazaniem z wykorzystaniem jakich materiałów oraz metod te cele zostały zrealizowane.

Rozdział pt. „Wprowadzenie i uzasadnienie wyboru tematu” bardzo dobrze wprowadza czytającego w podjęty przez Panią mgr temat badawczy, a sformułowane 4 cele zwięźle określają obrane kierunki badań. Kolejny rozdział - „Omówienie publikacji stanowiących cykl” jest syntetycznym opisem dokonanego przeglądu piśmiennictwa (praca 1) oraz wyników przeprowadzonych badań, które zostały przedstawione w pracach nr 2 i 3. Stanowi to spójną całość będącą podstawą ubiegania się o nadanie stopnia dr n. med. przez Panią mgr Kingę Urbanek.

W **pierwszej publikacji** Doktorantka dokonała przeglądu danych z piśmiennictwa oraz przedstawiła aktualny stan wiedzy na temat źródeł, mechanizmów działania oraz wpływu na organizm ludzki i zwierzęcy mykotoksyny będącej obiektem Jej dalszych zainteresowań



naukowych, a mianowicie deoksyniwalenolu (DON). W świetle danych mówiących o wpływie tego związku na proces steroidogenezy jest to ze wszech miar uzasadnione. Publikacja ta jest obszernym opracowaniem liczącym 10 stron i zawierającym 4 tabele i 4 rysunki, opartym na 87 pozycjach piśmiennictwa. Mimo rygorystycznej oceny manuskryptu prac przez recenzentów czasopisma, pozwolę sobie na uwagę dotyczącą rysunku 1, gdzie należałoby wskazać źródło z którego zostały zaczerpnięte wzory prezentowanych związków. Najważniejszą częścią publikacji nr 1 jest omówienie molekularnego mechanizmu działania DON na poziomie komórkowym, ze wskazaniem jego wpływu na aktywację kinaz komórkowych i białkowych aktywowanych mitogenami oraz dysregulację procesów steroidogenezy poprzez oddziaływanie na enzymy biorące udział w szlakach sygnałowych na poziomie izoenzymów cytochromu P450. Stanowi to dobre wprowadzenie i uzasadnienie dla przeprowadzonych badań z wykorzystaniem odpowiednich linii komórkowych przedstawionych w pracach nr 2 i 3. Wskazuje się na rolę małych niekodujących cząsteczek kwasu deoksyrybonukleinowego (miRNA) w modulacji steroidogenezy w jajnikach, jądrach i nadnerczach poprzez wpływ na ekspresję genów kluczowych enzymów zaangażowanych w ten proces, co też stało się obiektem Pani mgr, w których oceniała Ona czy ekspozycja na DON również może mieć wpływ na regulację zachodzącą za pośrednictwem miRNA. Jedyna uwaga do części opisowej publikacji nr 1 dotyczy użytego przez Panią mgr sformułowania „Dowodzono, że DON osłabiał zdrowie świń ...”, które wydaje się nie do końca fortunne.

W **drugiej publikacji**, z uwagi na nieliczne dane z piśmiennictwa naukowego na temat wpływu DON na komórki gruczołu krokowego (PCa) i steroidogenezę, Pani mgr zaprojektowała badania, w których oceniała wpływ tej mykotoksyny na komórki PCa, zarówno prawidłowe jak i nowotworowe, o różnej wrażliwości na androgeny. Ponadto działanie to oceniała w odniesieniu do wpływu dehydroepiandrosteronu (DHEA), hormonu steroidowego, który często jest stosowany przez mężczyzn w terapii zastępczej w celu podniesienia endogennego poziomu testosteronu. Wskazywane mechanizmy i szlaki działania zostały dobrze zobrazowane na zamieszczonym w pracy rysunku, który jest bardzo dobrym uzupełnieniem przekazywanych treści. Badania zostały przeprowadzone aż na czterech liniach komórkowych: prawidłowej - normalny nabłonek prostaty unieśmiertelniony za pomocą SV40 (PNT1a) oraz trzech liniach nowotworowych o różnej wrażliwości na androgeny, tj. linii PC-3, DU-145, oraz LNCaP, które były przez 48 godzin eksponowane na różne stężenia DON i DHEA, pojedynczo lub w połączeniu mykotoksyny z hormonem. Jest to interesujący kierunek badań, który przyniósł Doktorantce ciekawe obserwacje. Wykazała Ona, że ekspozycja na sam DON lub w połączeniu z DHEA miała stymulujący wpływ na uwalnianie estradiolu i testosteronu, a także wpływała na sekrecję progesteronu z komórek i powodowała zmianę żywotności komórek. Ta ostatnia cecha była podstawą do wybrania czasu ekspozycji na badane związki i ich stężeń użytych w doświadczeń. Ponadto oceniała zmiany ekspresji aż 9 genów związanych ze steroidogenezą (CYP11A1, CYP17A1, CYP19A1, HSD3B2, HSD17B2 i StAR, AR, ESR2 oraz AN5Xa) wykazując zmiany ekspresji genów zależne od dawki związków. Wykazała również wpływ DON i DHEA na progresję cyklu komórkowego o różnym charakterze. Badania pokazały, że DON może znacząco wpływać na modulację procesu steroidogenezy zarówno w przypadku linii nowotworowych, jak i prawidłowych oraz, że ma największe znaczenia dla indukowania



zmian w cyklu komórkowym oraz indukowaniu apoptozy, natomiast w połączeniu z DHEA działanie jest wybiórcze. Uzyskane przez Panią mgr wyniki są interesującą i istotną obserwacją z uwagi na częste stosowanie suplementacji DHEA przez mężczyzn.

**Trzecia publikacja** w naturalny sposób wypływa z wyników uzyskanych w poprzedniej pracy i wskazuje na umiejętność planowania dalszych badań dla realizacji założonych celów naukowych przez Doktorantkę. W tym etapie badań Pani mgr oceniała działanie alternariolu (AOH), mykotoksyny wytwarzanej przez grzyby z gatunku *Alternaria*, która dzięki podobieństwu do cholesterolu może się wbudowywać w błony komórkowe. Do przeprowadzenia eksperymentów Doktorantka wybrała tym razem dwie linie komórkowe gruczołu krokowego, tj. PNT1a i PC-3. W pierwszym etapie wykazała, że AOH wpływa na żywotność komórek w sposób zależny od dawki i czasu ekspozycji. Kolejne badania pozwoliły na uzyskanie interesujących wyników, które pokazały, że 48 godzinna inkubacja komórek z AOH nie wpływa znacząco na wydzielanie przez nie hormonów steroidowych (testosteronu, progesteronu i estradiolu), natomiast co istotne, koekspozycja na AOH i DHEA modulowała wydzielanie tych hormonów w obydwu liniach komórkowych - prawidłowej i nowotworowej, co w aspekcie wspomnianego wcześniej przyjmowania DHEA jako suplementu jest ważną obserwacją. Doktorantka zaobserwowała, że AOH może wywierać modulujący efekt endokryny na komórki, odzwierciedlany różnego stopnia zmianami w ekspresji genów kodujących wybrane enzymy i receptory (CYP11A1, STAR, CYP17A1, HSD3B2, AR, ESR2 oraz AN5Xa) zarówno po ich ekspozycji na sam AOH, jak i w połączeniu z DHEA. Ponadto AOH wpływał na indukcję apoptozy w komórkach oraz modulował progresję cyklu komórkowego w nieco odmienny sposób dla linii nowotworowej i prawidłowej. Jak podkreśla Doktorantka, są to pierwsze tego typu badania, określające wpływ AOH i DHEA na proces steroidogenezy w komórkach linii prawidłowej gruczołu krokowego, jak i nowotworowej, i powinny być kontynuowane dla wyjaśnienia mechanizmów i szlaków tych działań, do czego również zachęcam Panią magister.

Niezależnie od faktu poddania manuskryptów prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wymagającemu procesowi recenzji przez redakcję, jedyna uwaga, która się nasuwa dotyczy zastosowanej metody statystycznej i proszę o rozszerzenia tego fragmentu w zakresie analizy różnic między grupami. Proszę również o doprecyzowanie informacji podanych na str. 17 i 18 odnośnie czasu inkubacji komórek z danymi związkami.

W rozdziale 4 pt. „Wnioski”, na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka sformułowała 4 zwarte wnioski, które dobrze oddają ważność uzyskanych wyników i najważniejsze obserwacje. Brakuje mi jedynie informacji – wniosku, o efektach działania użytego w eksperymentach hormonu steroidowego – DHEA, gdyż uzyskane z jego udziałem wyniki są również interesujące i ważne dla koncepcji przeprowadzonych badań. Ponadto dobrym uzupełnieniem byłoby także dodanie krótkiej informacji, być może w postaci podsumowania lub jednego dodatkowego „wniosku” z przeprowadzonej dogłębnej analizy piśmiennictwa w pracy przeglądowej, a także wskazanie dalszych, możliwych kierunków badań w tym obszarze.

Podsumowując, Pani mgr Kinga Urbanek w pełni zrealizowała postawione sobie cele badawcze poprzez prawidłowo zaplanowane i zrealizowane badania modelowe na liniach komórkowych, w oparciu o bardzo dobry warsztat badawczy oraz dokonaną uprzednio dogłębną analizę teoretyczną opartą o przegląd dostępnych danych z piśmiennictwa światowego. Wyniki badań z powodzeniem zostały opublikowane w impaktowanych czasopismach o zasięgu światowym oraz zaprezentowane w postaci monotematycznego cyklu trzech publikacji składających się na recenzowaną rozprawę doktorską. Ich wartość naukowa nie budzi żadnych zastrzeżeń, a wybrana tematyka, zaplanowane badania oraz ich realizacja w oparciu o bogaty warsztat badawczy, wskazuje na dojrzałość naukową i doświadczenie naukowe Doktorantki. Poczynione obserwacje i uzyskane wyniki mają dużą wartość naukową i aspekt poznawczy.

W oparciu o powyższe, z przyjemnością mogę stwierdzić, iż przedłożona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ww. Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym z 20 lipca 2018 roku (Dz.U. z 2018r. poz. 1668 z późn. zmianami) i wnoszę do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, o dopuszczenie Pani mgr Kingi Urbanek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje również do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Kingi Urbanek zatytułowanej „Mykotoksyny jako modulatory szlaków syntezy hormonów steroidowych” stosowną nagrodą z uwagi na wysoką wartość naukową, zastosowany szeroki warsztat badawczy oraz duży potencjał poznawczy uzyskanych wyników.

Z poważaniem

Prof. dr hab. Agnieszka Piwowar

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
KATEDRA I ZAKŁAD TOKSYKOLOGII  
kierownik  
prof. dr hab. Agnieszka Piwowar

Wrocław, 01.09.2023r.