



ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu
Katedra i Zakład Chemii i Analizy Leków
41-200 Sosnowiec, ul. Jagiellońska 4
Tel: 32 3461613, email: dwrzesniok@sum.edu.pl

Ocena pracy doktorskiej pt.:

**OCENA MOLEKULARNEGO MECHANIZMU DZIAŁANIA NOWYCH POCHODNYCH
TETRAHYDROAKRYDINY I CYKLOPENTACHINOLINY JAKO POTENCJALNYCH
ZWIĄZKÓW PRZECIWNOWOTWOROWYCH**

wykonanej przez
mgr Paulinę Olszewską

w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji
Katedry Chemii Farmaceutycznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi



Rak płuca jest najczęściej występującym nowotworem na świecie. W Polsce każdego roku stwierdza się około 23 tysięcy nowych zachorowań. Ten typ nowotworu dotyczy ponad 1/4 wszystkich chorych na raka, a umieralność z jego powodu stanowi 28% wszystkich zgonów z przyczyn nowotworowych. Jest to najczęściej występujący nowotwór u mężczyzn oraz drugi co do częstości występowania u kobiet. Szczyt zapadalności dotyczy osób w wieku 55–60 lat. Istnieją co najmniej 3 grupy czynników zwiększających prawdopodobieństwo rozwoju raka płuc. Czynnikiem ryzyka numer jeden jest palenie tytoniu.

Na początku dwudziestego wieku rak płuca występował rzadko. Jednakże w następnych latach technologie masowej produkcji uczyniły papierosy powszechnie dostępnymi, a rak płuca częściej występującą chorobą. Tytoń zawiera około 4 tys. substancji chemicznych, w tym ponad 400 związków o udowodnionych właściwościach rakotwórczych. Uważa się, że około 87% raków płuca jest spowodowanych paleniem lub bierną ekspozycją na dym tytoniowy.

Drugim co do częstości czynnikiem ryzyka rozwoju raka płuc jest azbest, którego rakotwórczy wpływ jest potęgowany przez jednoczesne palenie tytoniu. W dalszej kolejności należy wymienić karcynogeny przemysłowe, takie jak: związki arsenu, chromu, niklu, policykliczne węglowodory aromatyczne oraz czynniki środowiskowe.

Podczas gdy diagnoza raka płuca może być dla chorego szokiem, niekoniecznie musi oznaczać wyrok. Nowe metody leczenia dają chorym rosnącą nadzieję na wydłużenie przeżycia i poprawę jakości życia.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Pauliny Olszewskiej stanowi interesujące opracowanie dotyczące poszukiwania nowych związków chemicznych mogących odgrywać istotną rolę w chemioterapii raka płuc. Tytuł dysertacji został prawidłowo sformułowany, a wybór tematu uważam za trafny, zgodny z kierunkiem współczesnych badań naukowych i aktualnym stanem wiedzy oraz wzbudzający z oczywistych względów zainteresowanie nie tylko onkologów.

Rozprawa doktorska obejmuje 135 stron tekstu wraz z piśmiennictwem. Tekst pracy podzielony jest na typowe dla opracowań naukowych rozdziały, z zachowaniem właściwych



proporcji pomiędzy nimi i zawiera: Spis treści (2 strony), Wstęp (28 stron), Założenia i cel pracy (1 strona), Materiały i metody (13 stron), Wyniki badań (38 stron), Omówienie wyników i dyskusję (9 stron), Wnioski (3 strony), Streszczenie w języku polskim (2 strony) i angielskim (2 strony) oraz Bibliografię (21 stron). Dodatkowo w pracy zamieszczono **Indeks skrótów** stosowanych w tekście pracy, znacząco ułatwiających jej lekturę.

We **Wstępie** Doktorantka w oparciu o obszerne piśmiennictwo scharakteryzowała rak płuca, uwzględniając jego etiologię i dostępne obecnie metody leczenia. Drugi podrozdział szeroko omawia pochodne akrydyny jako leki przeciwnowotworowe. W kolejnym podrozdziale Autorka przedstawiła aktualną wiedzę z zakresu wewnątrz- oraz zewnątrzpochodnego szlaku apoptozy. Ostatnie podrozdziały tej części pracy zostały poświęcone charakterystyce cyklu komórkowego oraz roli szlaku indukowanego uszkodzeniami DNA w apoptozie. Omówione we Wstępie zagadnienia, uzupełnione 10 rycinami, świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do podjęcia badań, będących podstawą Jej pracy doktorskiej, a także stanowią wprowadzenie do postawionego celu badań, który został jasno sformułowany, a jego wybór przekonująco uzasadniony.

Celem badań przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej Pani magister Pauliny Olszewskiej była ocena aktywności przeciwnowotworowej nowych szesnastu pochodnych tetrahydroakrydyny i nowych szesnastu pochodnych cyklopentachinoliny *in vitro* oraz określenie molekularnych mechanizmów działania wyselekcjonowanych związków, wykazujących największą inhibicję przeżywalności komórek raka płuc.

Przedstawiony przez Doktorantkę cykl badań stanowi przemyślany i starannie zaplanowany panel eksperymentów pozwalających na pełną analizę założonego problemu badawczego. Realizacja postawionego celu pracy wymagała przeprowadzenia badań z wykorzystaniem hodowli komórek niedrobnokomórkowego raka płuc A549, w tym oceny żywotności komórek w obecności badanych związków chemicznych.



W drugim etapie badań dla sześciu wybranych związków została przeprowadzona analiza cyklu komórkowego poprzez oznaczenie rozkładu cyklu komórkowego metodą cytometrii przepływowej oraz poprzez ocenę poziomu ekspresji białek, które biorą udział w jego regulacji. Kolejne etapy pracy eksperymentalnej Doktorantki obejmowały szeroką analizę wpływu wyselekcjonowanych pochodnych akrydyny na indukcję apoptozy komórek raka płuc oraz indukcję szlaku odpowiedzi na uszkodzenia nici DNA. Ostatnia część badań dotyczyła sprawdzenia wpływu pochodnych akrydyny na migrację badanych komórek nowotworowych. Schemat szczegółowych zadań badawczych został przedstawiony na przejrzystej rycinie, co jest dodatkowym atutem tej części pracy.

Szczegółową charakterystykę 32 nowych pochodnych akrydyny otrzymanych w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz opis warunków prowadzenia hodowli komórek raka płuc i zastosowanych metod badawczych, z uwzględnieniem stosowanych odczynników chemicznych Doktorantka zamieściła w rozdziale **Materiały i metody**. Rozdział ten zakończony jest informacją na temat zastosowanych w pracy metod analizy statystycznej niezbędnych do oceny uzyskanych wyników. W tym miejscu chciałabym zapytać dlaczego do analizy tak obszernego materiału wynikowego zastosowano jedynie test „t-Studenta”? Moim zdaniem warto rozważyć w przyszłych badaniach przeprowadzenie bardziej rozbudowanej analizy statystycznej.

Wyniki badań zostały poprawnie opisane na 38 stronach pracy. Dokumentacja uzyskanych wyników została przedstawiona ponadto na 25 rycinach. W tej części Autorka dokonuje również zasadniczego omówienia wyników i wysuwa po każdym cyklu badań wnioski cząstkowe.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka wykazała, że reszta kwasu fluorobenzoesowego i długość łańcucha alifatycznego zwiększają przeciwnowotworową aktywność pochodnych tetrahydroakrydyny i cyklopentachinoliny, jak również decydują o molekularnym mechanizmie działania tych związków. Ponadto stwierdziła, że związki chemiczne poddane ocenie powodowały aktywację procesu apoptozy oraz zahamowanie



cyklu komórkowego poprzez indukcję szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Przeprowadzony cykl eksperymentów pozwolił Pani Paulinie Olszewskiej na wyselekcjonowanie spośród 32 pochodnych akrydyny, dwóch związków z resztą kwasu 4-fluorobenzoowego wykazujących najlepsze właściwości przeciwnowotworowe.

Interpretacji uzyskanych wyników badań Doktorantka dokonała w rozdziale **Dyskusja**. Rozdział ten świadczy o bardzo dobrej znajomości zagadnienia, znakomitym przygotowaniu do realizacji badań, będących przedmiotem pracy doktorskiej oraz o umiejętności rzeczowej i krytycznej oceny własnych wyników. W rozdziale tym Doktorantka komentuje efekty przeprowadzonych badań w odniesieniu do danych literaturowych.

Przeprowadzone badania pozwoliły nie tylko na sformułowanie w pełni uzasadnionych **wniosek**, odpowiadających założonemu celowi pracy i wnoszących ważne informacje do aktualnego stanu wiedzy, lecz także na przedstawienie molekularnego mechanizmu aktywności przeciwnowotworowej nowych pochodnych akrydyny.

Cytowane przez Doktorantkę **Piśmiennictwo** naukowe w większości anglojęzyczne, zostało dobrze dobrane tematycznie. Rozprawa doktorska została zakończona **Streszczeniem** w języku polskim i angielskim.

Z dużą satysfakcją pragnę też podkreślić, że treść pracy napisana jest starannie, zwięźle i utrzymana w logicznej sekwencji. Styl sformułowań jest poprawny naukowo, a tekst komunikacyjny.

Reasumując wyrażam opinię, że przedłożona przez Panią mgr Paulinę Olszewską rozprawa, z uwagi na zaprezentowany poziom naukowy oraz oparcie wysuniętych wniosków na obszernym materiale eksperymentalnym w pełni odpowiada wymogom ustawowym stawianym rozprawom doktorskim.

Jednocześnie, zważywszy na nowe elementy poznawcze, zawarte w ocenianej rozprawie, zastosowanie złożonego warsztatu metodycznego, a także potencjalne znaczenie praktyczne opisanych badań, proponuję wyróżnienie pracy.



ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu
Katedra i Zakład Chemii i Analizy Leków
41-200 Sosnowiec, ul. Jagiellońska 4
Tel: 32 3461613, email: dwrzesniok@sum.edu.pl

Potwierdzeniem wysokiej wartości merytorycznej przedstawionej do recenzji dysertacji jest opublikowanie wyników badań, w formie oryginalnych prac, w czasopismach posiadających znaczący współczynnik oddziaływania Impact Factor.

W tej sytuacji z pełnym przekonaniem przedkładam Pani Dziekan i Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, wniosek o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Olszewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Sosnowiec, 20.07.2016

Dr hab. n. farm. Dorota Wrześniok

ADIUNKT
Katedry i Zakładu Chemii i Analizy Leków
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Dorota Wrześniok
dr hab. n. farm. Dorota Wrześniok