



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Kierownik Katedry Morfologii i Embriologii Człowieka

prof. dr hab. Piotr Dziegiel

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr Niny Filipczak

pt.: „Nowa liposomowa formuacja mitoksantronu i substancji bioaktywnych pochodzenia naturalnego oraz ocena jej skuteczności w zwalczaniu nowotworów skóry”

Choroby nowotworowe skóry w dalszym ciągu stanowią istotny problem współczesnej onkologii. Pomimo znaczących postępów w zakresie profilaktyki, wczesnej diagnostyki, a także metod leczenia, spodziewane efekty nie są w pełni zadowalające. Najgroźniejszym typem nowotworów skóry jest czerniak (łac. melanoma malignum), którego histogeneza wywodzi się z komórek barwnikowych skóry – melanocytów. Te z kolei, w rozwoju embrionalnym pochodzą z grzebieni nerwowych, co nie pozwala zakwalifikować czerniaka jako typowego nowotworu złośliwego skóry. Być może również z tego powodu, jego biologia jest odmienna od typowych raków skóry. Często z małego ogniska pierwotnego, późno zdiagnozowanego, dochodzi do bardzo szybkiej progresji procesu z licznymi przerzutami do regionalnych oraz obwodowych węzłów chłonnych, a także narządów odległych. Zaawansowane stadium tej choroby nie daje się opanować standardowymi metodami leczenia, nieuchronnie prowadząc do śmierci pacjenta. Jedną z metod powszechnie wykorzystywanych w leczeniu czerniaka jest chemioterapia. Jednakże oporność (pierwotna lub wtórna) komórek nowotworowych na stosowane cytostatyki w znacznym stopniu ogranicza efektywność leczenia.

Mając na uwadze powyżej przytoczone informacje uważam, że tematyka i cel przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej, jak najbardziej wpisują się w obecny trend badań naukowych w zakresie onkologii eksperymentalnej.

Przystępując do oceny monografii uważam, że tytuł pracy powinien brzmieć inaczej – tzn. zamiast sformułowania „... nowotworów skóry”, użyłbym po prostu słowa „czerniaka”, ze względu na fakt badań ograniczonych głównie do linii komórkowych tego nowotworu.

Nie jestem ekspertem w dziedzinie technologii liposomalnych, lecz znając od dłuższego czasu Pana Prof. Jerzego Gubernatora oraz Jego osiągnięcia w tym zakresie, jestem przekonany o prawidłowości przeprowadzonych eksperymentów, nakierowanych na otrzymanie odpowiednich postaci liposomalnych mitoksantronu.

Wracając jednak do wstępu pracy stwierdzam, że opiera się on na dogłębnym przeglądzie literaturowym, wprowadzając czytelnika w zagadnienia będące przedmiotem badań doktorantki. Oceniając pozytywnie tę część pracy doktorskiej, mam jednak kilka uwag:

- w języku polskim oraz nomenklaturze medycznej powinno się używać określenia „czerniak”, a nie „melanoma”, „melanomy” itp.
- również słowo „metastaza” jest spolszczeniem określenia „przerzut”, które jest odpowiedniejsze
- na stronie 19, autorka pisze, że promieniowanie UV-A wywołuje stan zapalny melanocytów. Jest to nieprawda, ponieważ stan zapalny może dotyczyć obszaru ciała, tkanki, czy narządu, a nie komórek
- na stronie 21 doktorantka opisując prawidłowe melanocyty przyrównuje je do komórek nerwowych, wykorzystując do tego cechy budowy typowych neuronów (perikarion, dendryty itp.). Można jedynie mówić o podobnych strukturach komórkowych, ale nie należy posługiwać się mianownictwem zarezerwowanym dla komórek tkanki nerwowej
- na tej samej stronie autorka stwierdza, że „Rozwój mikroskopii znacznie rozszerzył możliwości prawidłowej diagnostyki melanomy”. Nie zgadzam się z tym poglądem, gdyż rozwój ten był możliwy dzięki wprowadzeniu techniki immunohistochemicznej z wykorzystaniem detekcji np. takich białek jak HMB-45 czy Melan-A
- na stronie 27 stwierdzenie „..., w których nabłonek naczyń ma charakter siateczkowaty...”, nie jest prawdziwe. Po pierwsze, komórki nabłonka błony wewnętrznej naczyń to komórki śródbłonka. Po drugie, ten typ śródbłonka nazywamy nieciągłym lub zatokowym
- na stronie 30 zdanie: „Większość nowotworów rozwija się w układzie naczyniowym...” mogłoby sugerować, że spotykamy się tylko z nowotworami o takiej histogenezie, a przecież nowotwory człowieka mogą wywodzić się praktycznie ze wszystkich typów tkanek i narządów naszego organizmu.

Jak napisałem wcześniej, pomimo pewnych uchybień oraz błędów merytorycznych pozytywnie oceniam tę część pracy doktorskiej.

Rozdział „Wyniki” jest obszerną częścią manuskryptu, co świadczy o mnogości i różnorodności przeprowadzonych przez doktorantkę eksperymentów. Prezentowane rezultaty są

dobrze zobrazowane, choć ich liczba czasami utrudnia szybką i właściwą interpretację. Uważam jednak, że świadczą one o dużej rzetelności doktorantki i zaangażowaniu w przeprowadzane eksperymenty. Również do tej części pracy mam kilka uwag:

- w opisie wyników autorka używa określenia „hepatotoksyczność”, gdzie do badań była wykorzystana linia HeP G2 ludzkiego raka wątrobowokomórkowego. W tym wypadku o hepatocytach i hepatotoksyczności można mówić tylko w sposób pośredni

- co było „kontrolą” przedstawioną na wykresach 18 – 19 itd.?

Ponadto, sugerowałbym w dalszych eksperymentach przeprowadzenie badań określających poziom ekspresji ABC-transporterów z P-glikoproteiną na czele, celem pełniejszego wyjaśnienia mechanizmu zastosowanych przez doktorantkę formułacji liposomalnych. Podobnie, postulowałbym w późniejszych pracach, zbadanie poziomu ekspresji receptorów (TFR1 i TFR2) w wykorzystanych liniach komórkowych. Uzyskane rezultaty potwierdziłyby wyniki dotyczące oceny stopnia asocjacji liposomów z komórkami docelowymi.

Zwieńczeniem przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej jest „Dyskusja”. W tej części pracy doktorantka krytycznie ocenia uzyskane przez siebie rezultaty i porównuje je z wynikami innych autorów. Czasami wyciąga zbyt daleko idące konkluzje, jak np. o hamowaniu działania P-glikoproteiny w wyniku blokowania szlaku NF-kB przez kwas anakardowy.

Oceniając jednak całość dyskusji uważam, że jest napisana poprawnie i odzwierciedla analizę uzyskanych rezultatów. Ponadto, jak doktorantka słusznie zauważa w podsumowaniu, badania w modelu *in vitro*, mogą być tylko wstępem do szeroko zakrojonych eksperymentów przedklinicznych na modelu zwierzęcym a później być może badań klinicznych.

Dodatkowo, w moim odczuciu tego typu prace monograficzne powinny być zaopatrzone rozdziałem wnioski, którego zabrakło.

Podsumowując, doktorantka rzetelnie przeprowadziła zaplanowane badania, które wyczerpały założone cele pracy doktorskiej. Na tej podstawie została wytypowana formułacja liposomalna mitoksantronu, która charakteryzuje się (w badaniach *in vitro*) dobrymi parametrami klinicznymi. Niewątpliwie, eksperymenty te mogą stanowić wstęp do dalszych badań, które być może w przyszłości pozwolą na zastosowanie w różnych typach chorób nowotworowych skutecznych leków.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pani mgr Niny Filipczak spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. (z późniejszymi zmianami), dotyczącej nadawania stopni naukowych i tytułu naukowego oraz stopni i tytułu w zakresie sztuki. Wnioskuje zatem do Wysokiej Rady Naukowej Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o przeprowadzenie dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biotechnologia mgr Ninie Filipczak.

Ponadto, mając na uwadze nowatorski charakter zaprezentowanych badań oraz różnorodność przeprowadzonych eksperymentów, wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej pracy doktorskiej.

Wrocław, dnia 16.10.2017 r.

