



Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Aoife Corcoran

pt.: "Testing calcemic and non-calcemic activities of new vitamin D₂ analogues via *in-vitro* and *in-vivo* studies"

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Aoife Corcoran wykonana została w Zakładzie Biotechnologii Białek, na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego, pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Marcinkowskiej. Przedstawiona mi do recenzji dysertacja liczy 168 ponumerowanych stron, w tym wstęp oraz przegląd literaturowy zajmują 43 strony, omówienie badań własnych wraz z opisem użytych związków i aparatury 74 strony, dyskusja wyników i wnioski 18 stron. Ponadto zamieszczony jest spis odnośników literaturowych. Praca doktorska, posiadająca bardzo staranną szatę graficzną, dotyczy czynności biologicznej analogów witaminy D₂. Należy więc uznać, że opisane w recenzowanej pracy badania mgr Aoife Corcoran pozostają w ścisłym związku z tematyką badawczą, realizowaną od szeregu lat przez prof. Ewę Marcinkowską i jej współpracowników.

Przedstawię teraz moją opinię o kolejnych częściach recenzowanej pracy. Na samym początku tekstu znajduje się zestaw skrótów stosowanych w tekście dysertacji, a następnie krótkie streszczenie obejmujące podstawowe informacje o hormonie witaminowym 1 α ,25-(OH)₂D₃ i jego analogach, zwłaszcza pochodnych 1 α ,25-(OH)₂D₂, a także bardzo zwięzłe przedstawienie badań opisanych w pracy doktorskiej wraz z najważniejszymi wnioskami.

Następnie, Doktorantka rozpoczyna przegląd literaturowy zaczynając od omówienia hematopoezy. Tak więc, przedstawia różne modele hematopoezy, opisując przy tym właściwości elementów morfotycznych krwi oraz drogi przekształceń hematopoetycznych komórek macierzystych oraz ich rolę w krwiotworzeniu. Kolejny podrozdział poświęcony jest białaczce, a dokładniej ostrej białaczce mieloblastycznej (szpikowej), która jest jedną z częściej spotykanych form (80%) tej choroby u ludzi dorosłych. Doktorantka dokładnie omawia klasyfikację tej choroby zgodnie z systemem WHO, przedstawiając istotne dane na temat jej patogenezy, metod terapeutycznych oraz ich skuteczności. Przechodzi następnie do opisu modeli komórkowych używanych do badania ostrej białaczki szpikowej, obejmujących pięć

linii komórkowych, m. in. KG1 oraz HL-60. Informuje przy tej okazji o odkryciu, że $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ indukuje różnicowanie komórek linii HL-60 do monocytów. Te właśnie obserwacje spowodowały tak znaczne zainteresowanie licznych grup badawczych na całym świecie syntezą analogów hormonu witaminowego i badaniem ich zdolności różnicujących komórki nowotworowe w celu znalezienia potencjalnych leków w terapii białaczki. Ostatni podrozdział wstępu poświęcony jest witaminom grupy D. Doktorantka skupia się na witaminach D_2 i D_3 , omawiając ich aktywne metaboliczne formy powstające w wyniku enzymatycznego hydroksylowania, zwraca także uwagę na problemy związane z ich toksycznością. Po zwięzłym omówieniu receptora witamin D (VDR) przechodzi do aktywności biologicznej kompleksu hormon witaminowy-VDR oraz jego roli transkrypcyjnej. Wyniki badań, wskazujących na to, że $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ reguluje ekspresję ponad 200 genów, a dla VDR zidentyfikowano w genomie ponad 2700 miejsc wiążących, daje pojęcie o roli witamin D w funkcjonowaniu organizmów żywych. W końcowej części rozdziału Doktorantka krótko omawia modyfikacje strukturalne analogów $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, otrzymanych na drodze syntetycznej, oraz wskazuje jakie związki witaminowe znalazły już zastosowanie terapeutyczne. Szkoda jednak, że przy podawaniu tak istotnych danych nie zamieściła wzorów strukturalnych tych witamin – znacznie ułatwiałoby to zorientowanie się, jakie zmiany budowy tych B-sekosteroidów okazały się obiecujące.

Następnie Doktorantka przedstawia główne cele swych badań, obejmujące:

- a) znalezienie analogów $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$ o potencjalnym zastosowaniu terapeutycznym (antybiałaczkowym); przy tej okazji opracowanie metody ustalania ich wiązalności z VDR;
- b) zbadanie dlaczego niektóre komórki, stosowane dla badań ostrej białaczki szpikowej, nie reagują na $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, inne natomiast ulegają różnicowaniu.

W kolejnych rozdziałach pracy podane są struktury analogów $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$, których badania opisane są w pracy. Struktury te dokumentują bliską współpracę prof. Ewy Marcinkiewicz z prof. Andrzejem Kutnerem, w którego zespole, w Instytucie Farmaceutycznym w Warszawie, przeprowadzono syntezy tych związków. Po wymienieniu zastosowanych do badań odczynników, linii komórkowych oraz wykorzystanej aparatury, opisane są techniki pracy z białkami (m.in. zestaw służący do badań wiązalności VDR z analogami witaminowymi) oraz RNA i DNA. Osobny podrozdział związany jest z badaniami aktywności kalcemicznej witamin prowadzonymi *in vivo* na myszach.

Główna część pracy opisuje już rezultaty badań Doktorantki nad trzema seriami związków witaminowych. Zaczynają się one od ustalenia aktywności biologicznej czterech analogów $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_2$, różniących się budową łańcucha bocznego. Jest to pierwsza badana

