

Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Ceramiczna 1
20-150 Lublin
tel. 081-7187352

O C E N A
rozprawy na stopień doktora
p.t. "Ocena aktywności przeciwnowotworowej wybranych pochodnych 1,3-tiazyn
w komórkowym modelu raka jelita grubego"
magistra ARKADIUSZA MARKA CZERWONKI
z Zakładu Immunologii i Wirusologii Instytutu Mikrobiologii i Biotechnologii
UMCS w Lublinie

Choroby nowotworowe są obecnie zaliczane do chorób cywilizacyjnych, o czym decyduje ich globalny zasięg i częstość występowania oraz fakt, że stanowią poważny problem społeczny. Choroby nowotworowe jelita grubego są jednym z najczęściej występujących nowotworów. Leczenie opiera się przede wszystkim na radykalnym postępowaniu chirurgicznym z następową chemioterapią i radioterapią. Proces leczenia wiąże się z poważnymi działaniami niepożądanymi i często ze znaczącym ograniczeniem komfortu życia. Mimo prowadzenia intensywnych badań skuteczność farmakoterapii jest dalece niewystarczająca. Dlatego tematyka badań podjętych w rozprawie doktorskiej jest uzasadniona nie tylko przesłankami czysto poznawczymi, ale także ze względami utylitarnymi.

Przedłożona do oceny rozprawa na stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej p.t. "Ocena aktywności przeciwnowotworowej wybranych pochodnych 1,3-tiazyn w komórkowym modelu raka jelita grubego" magistra Arkadiusza Czerwonki z Zakładu Immunologii i Wirusologii Instytutu Mikrobiologii i Biotechnologii UMCS w Lublinie jest monograficznym opracowaniem liczącym 106 stron. Układ pracy jest typowy.

Rozdział zatytułowany „Wstęp” liczy 20 stron. Został on podzielony na 3 podrozdziały, a w nich 9 dalszych części. W rozdziale tym opisano kolejno epidemiologię, klasyfikację i

postępowanie terapeutyczne w nowotworach jelita grubego; zasady regulacji cyklu komórkowego oraz biologiczne podłoże działania pochodnych 1,3-tiazyny. Całość stanowi zwarty, ciekawie napisany materiał, który daje czytelnikowi obszerne i przejrzyste wprowadzenie w problematykę zagadnień podejmowanych w rozprawie doktorskiej.

Cel pracy sformułowano w oddzielnym, krótkim rozdziale. Ogólnym celem badań jaki przyświecał Doktorantowi był ocena właściwości przeciwnowotworowych nowych pochodnych 1,3-tiazyny oraz określenie molekularnego mechanizmu działania wybranej pochodnej w komórkach raka jelita grubego. Zaplanowano, że ten cel zostanie zrealizowany w 2 etapach. W pierwszym oceniono selektywność i skuteczność działania 6 pochodnych tiazyny na dwóch liniach komórek nowotworowych oraz jednej prawidłowej. W drugim etapie oceniano wpływ jednej substancji, którą wybrano w ramach realizacji pierwszego etapu badań, według przyjętego kryterium selektywności i skuteczności działania.

Z punktu widzenia poznawczego i praktycznego wybór tematu badań jest aktualny, a cele są prawidłowo sformułowane.

W kolejnym rozdziale zatytułowanym „Materiały” liczącym 8 stron szczegółowo wymieniono wszystkie użyte w badaniach materiały, skład płynów odżywczych do hodowli komórkowych, buforów i stosowanych żeli. Badania przeprowadzono na nieśmiertelnionych komórkach ludzkiego nabłonka jelita CCD 841 CoTr, na komórkach gruczolakoraka jelita grubego HT-29 i LS180. Wszystkie linie pochodziły z uznanych kolekcji linii komórkowych. W tej części podano również nazwy chemiczne i wzory strukturalne wszystkich badanych pochodnych tiazyny. Niestety nie wskazano, kto dokonał syntezy zastosowanych pochodnych 1,3-tiazyny i jaka była czystość badanych substancji. Napisano jedynie, że związki z grupy tiazyn otrzymano w Katedrze Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Nie podano również czy badane związki są objęte ochroną patentową, co ma znaczenie wdrożeniowe.

W kolejnym rozdziale zatytułowanym „Metody” na 11 stronach bardzo dokładnie opisano sposób przeprowadzenia doświadczeń. Analizę statystyczną wykonano przy użyciu testu ANOVA przy poziomie ufności wynoszącym 0,05. Wartości medialnego

stężenia inhibitora hamującego w 50% funkcje biologiczne (IC_{50}) wyznaczono w oparciu o metodę Litchfielda i Wilcoxona (Litchfield JT, Wilcoxon FA. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96:99-113, 1949). Metody badań dobrano prawidłowo, adekwatnie do założonego celu badań.

Rozdział „Wyniki” liczy 19 stron. Został on podzielony na 6 części. Wyniki zilustrowano 18 rycinami i zebrano w 8 tabelach. Ryciny są dobrze przygotowane pod względem graficznym. Są przejrzyste i czytelne. Należy podkreślić, że wszystkie wyniki zobrazowane na rycinach zostały szczegółowo przedstawione w tabelach.

Uzyskane wyniki omówiono na 9 stronach w rozdziale zatytułowanym „Omówienie wyników”. Układ tego rozdziału jest logiczny. Najpierw, konsekwentnie wyjaśniono i omówiono kolejność przeprowadzenia badań w fazie pierwszej i uzasadniono dokonany wybór pochodnej o numerze 1135 do drugiej fazy badań. Następnie wskazano możliwe miejsca oddziaływania substancji 1135 na procesy proliferacji komórek nowotworowych.

Wysoko należy ocenić przyjęcie algorytmu do selekcji substancji. Najpierw przeprowadzono badania z użyciem kilku badanych substancji w podstawowych testach, a dopiero potem poszerzone badania z użyciem jednej wybranej substancji. Przyjęcie takiego postępowania pozwala z jednej strony na znaczące ograniczenie kosztów badań a z drugiej strony daje większą szansę na szybkie wyselekcjonowanie substancji o dobrych parametrach farmakologiczno-toksykologicznych, która może zostać wdrożona do praktyki, co jest niecierpliwie oczekiwane przez chorych.

Bardzo pomocne dla czytelnika są dwie ilustracje przedstawiające schematy regulacji procesów wewnątrzkomórkowych z zaznaczonymi miejscami oddziaływania badanej substancji 1135. W tej części rozprawy Doktorant omówił nie tylko zalety ale także ograniczenia poszczególnych testów i wynikające z tego konsekwencje przy uogólnianiu wniosków. Doktorant omówił własne wyniki w świetle danych z prawidłowo dobranego, aktualnego piśmiennictwa. Wskazuje to na dojrzałość Doktoranta i jego przygotowanie nie tylko do wykonywania złożonych badań laboratoryjnych ale również do świadomej oceny uzyskanych wyników i prawidłowej ich interpretacji.

Wnioski zebrano w 9 punktach. W dużej mierze jest to podsumowanie wyników. Czytelnik może odczuwać pewien niedosyt, ponieważ brakuje ogólnego wniosku co do

szansy zastosowania zbadanej pochodnej tiazyny o symbolu 1135 w leczeniu chorób nowotworowych jelita grubego.

W pracy zacytowano 154 pozycje piśmiennictwa, które ułożone zostało alfabetycznie.

W rozprawie doktorskiej zawarty jest wykaz skrótów i streszczenie w języku angielskim.

W trakcie czytania rozprawy doktorskiej nasunęły mi się następujące uwagi krytyczne:

- (a) pewien niedosyt wzbudza nie dość dokładny opis badanych substancji; brak szczegółowych informacji o pochodzeniu substancji, sposobie ich projektowania (czy było to modelowanie komputerowe, o którym jest wzmianka w rozprawie ?) i brak danych dotyczących ochrony patentowej oraz brak informacji czy pochodne 1,3-tiazyny znajdują się w fazie badań klinicznych;
- (b) jako farmakolog oczekiwałem porównania ujawnionego mechanizmu działania substancji 1135 ze znanymi mechanizmami działania leków przeciwnowotworowych, co pozwoliłoby łatwiej ocenić na czym polega wyjątkowość działania tej pochodnej i umożliwiłoby czytelnikowi przewidywanie szans na sukces w dalszym rozwoju tej substancji lub podobnych pochodnych 1,3-tiazyny celem ich wdrożenia do praktyki klinicznej;
- (c) nie znalazłem jasnego stanowiska Autora rozprawy co do ewentualnej przydatności i możliwości zastosowania zbadanej substancji w praktyce klinicznej;
- (d) w rozprawie wielokrotnie użyto terminu „dawko zależny” pisząc rozdzielnie dwa wyrazy. Żeby nie wdawać się w rozważania nad słowotwórstwem i zasadami prawidłowej pisowni wyrazów w języku polskim proponowałbym używanie terminu, np.: w sposób zależny od dawki”.

Podsumowując, należy stwierdzić, że magister Arkadiusz Czerwonka przeprowadził bardzo pracochłonne badania. W trakcie wykonywania doświadczeń Doktorant opanował szereg nowoczesnych, złożonych procedur badawczych i nabył umiejętności dokonywania analizy wyników. Ze swych zadań wywiązał się bardzo dobrze, co świadczy, że jest dobrze przygotowany do prowadzenia badań naukowych. Cele założone do realizacji w ramach rozprawy doktorskiej zostały zrealizowane, a uzyskane wyniki są oryginalne i nowatorskie. Wyniki własne zostały prawidłowo przedstawione w

świetle aktualnych danych z piśmiennictwa naukowego. Publikacje zostały prawidłowo dobrane, a ich wyniki właściwie zinterpretowane. Należy podkreślić, że materiał zawarty w rozprawie posiada znaczny potencjał wdrożeniowy. Rozprawę doktorską oceniam wysoce pozytywnie.

Stwierdzam, że przedłożona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w artykule 13, ustęp 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i mam zaszczyt przedstawić Radzie Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii-Curie-Skłodowskiej w Lublinie wniosek o dopuszczenie magistra Arkadiusza Czerwonki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, 20 maja 2015 roku



p.o. Kierownika
Katedry i Zakładu Farmakologii
Doświadczalnej i Klinicznej

prof. dr hab. n. med. Waldemar A. Turski