



UNIwersytet Medyczny w Lublinie

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej
Zakład Chemii Nieorganicznej, Katedra Chemii
ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin
e-mail: anna.oniszczyk@umlub.pl

Lublin, 20.08.2018

RECENZJA rozprawy doktorskiej Pani mgr Barbary Gieroby
z tytułu *„Organizacja molekularna oraz aktywność*
przeciwnowotworowa ksantohumolu w odniesieniu do modelowych błon
lipidowych i wybranych linii komórek nowotworowych”
wykonanej pod kierunkiem **Pana prof. dr hab. Mariusza Gagosa**
w Zakładzie Biologii Komórki Wydziału Biologii i Biotechnologii
Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
promotor pomocniczy: **Pani dr Marta Arczewska**

Obserwowany w ostatnim czasie postęp w badaniach biologicznych surowców roślinnych uwarunkowany jest poszukiwaniem nowych, wydajnych źródeł związków pochodzenia naturalnego, jako potencjalnych środków leczniczych, w tym leków przeciwnowotworowych. Choroby nowotworowe są w Polsce i na świecie zasadniczą przyczyną przedwczesnych zgonów i mimo znacznego postępu, jaki dokonał się podczas ostatnich kilku dekad w zakresie podstaw molekularnych procesu karcynogenezy, procesów diagnostycznych i profilaktycznych, obecnie stosowane leczenie schorzeń nowotworowych jest nadal mało specyficzne i efektywne. Znalezienie nowych związków o szerokiej aktywności przeciwnowotworowej, przy jednocześnie niskiej cytotoksyczności względem komórek prawidłowych, pozostaje ciągle największym priorytetem i wyzwaniem w obszarze walki z nowotworami. Obiecującym kandydatem w tych poszukiwaniach wydaje się być ksantohumol - prenylowany flawonoid, zaliczany do chalkonów, pozyskiwany z żeńskich kwiatostanów szyszek chmielu (*Humulus Lupulus* L.). Liczne, prowadzone w ostatnich latach

badania wykazały, że związek ten charakteryzuje się szerokim spektrum działań farmakologicznych, takich jak: przeciwnowotworowe, antyangiogenne, przeciwzapalne, antybakteryjne, antywirusowe, neuroprotektoryjne przeciwmalaryczne, ale przede wszystkim przeciwnowotworowe. Na podstawie przytoczonych powyżej faktów uważam, że badanie organizacji molekularnej oraz ocena aktywności przeciwnowotworowej ksantohumolu w odniesieniu do modelowych błon lipidowych i wybranych linii komórek nowotworowych jest tematem jak najbardziej uzasadnionym.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska opracowana została w układzie klasycznym, charakterystycznym dla prac eksperymentalnych. Jest to 230 stronicowy maszynopis, podzielony na 7 rozdziałów, zawierający ponadto Aneks. Tekst uzupełniony został o 81 rycin (wykresy, zdjęcia, wzory, schematy, izotermy i widma) oraz 5 tabel.

Cele główne recenzowanej pracy obejmowały sprawdzenie aktywności antynowotworowej ksantohumolu w badaniach na materiale biologicznym, który stanowiły prawidłowe i nowotworowe linie komórkowe, a ponadto otrzymanie termodynamicznej charakterystyki oddziaływań prenyloflawonoidu ksantohumolu z najistotniejszymi lipidami błonowymi, w układach modelowych, z wykorzystaniem techniki monowarstw Langmuira. Są one ambitne i wskazują na bardzo dobre zorientowanie Autorki w zakresie planowanych badań.

W **części teoretycznej**, składającej się z dwóch rozdziałów Doktorantka przedstawiła podstawy teoretyczne zagadnień podjętych w pracy. Rozdział 1., poświęcony ksantohumolowi, zawiera strukturę chemiczną, występowanie, biosyntezę, syntezę chemiczną badanego związku oraz dokładny opis jego aktywności biologicznej, ze szczególnym uwzględnieniem aktywności przeciwnowotworowej. W Rozdziale 2. przedstawiono charakterystykę błon biologicznych. W tej części rozprawy wyjaśniono także różnice w profilu lipidowym pomiędzy komórkami zdrowymi i nowotworowymi oraz przybliżono charakterystyczne mikrodomeny błon biologicznych - tratwy lipidowe.

Część poświęcona badaniom własnym składa się z Rozdziału 3., przedstawiającego materiały, metody i aparaturę pomiarową zastosowane w doświadczeniach oraz Rozdziału 4., zawierającego wyniki badań i dyskusję. **Materiały i metody** zostały opisane bardzo skrupulatnie. Użyte techniki eksperymentalne pozwalają na wykonanie wszystkich analiz, mających na celu zrealizowanie założonej przez Panią mgr koncepcji badawczej. Należy podkreślić, iż zastosowana nowoczesna technika monowarstw Langmuira stanowi doskonałe narzędzie do utworzenia laboratoryjnego modelu błon biologicznych, pozwalające zbadać

wzajemne oddziaływania pomiędzy ksantohumolem a wytypowanymi lipidami błonowymi. Umożliwiło to uzyskać istotne informacje dotyczące powinowactwa tego flawonoidu do składników błon komórkowych. Otrzymane wyniki zostały dodatkowo wzbogacone o charakterystykę morfologiczną tworzonych monowarstw, uzyskaną dzięki zastosowaniu techniki mikroskopii kąta Brewstera. **Wyniki** badań biologicznych przeprowadzonych na prawidłowej linii komórkowej ludzkich fibroblastów NHDF oraz liniach komórkowych nowotworu prostaty PC-3 i nowotworu piersi T47D oraz rezultaty badań uzyskane przy pomocy techniki warstw jednocząsteczkowych Langmuira i mikroskopii kąta Brewstera zostały opisane w sposób czytelny. Umieszczenie rycin i tabel bezpośrednio po opisującym je tekście pozwala na szybką analizę oraz ocenę uzyskanych efektów. **Dyskusja** stanowi dogłębną analizę wyników własnych w odniesieniu do danych literaturowych. Autorka umiejętnie interpretuje uzyskane wyniki, co świadczy o jej zorientowaniu w problematyce stanowiącej założenie pracy doktorskiej.

Rozdział 5. zawiera **podsumowanie** treści zawartych w pracy doktorskiej, natomiast w Rozdziale 6. zawartych jest 14 szczegółowych **wniośków**, wyciągniętych na podstawie uzyskanych wyników. Rozdział 7. jest **streszczeniem** rozprawy w języku polskim oraz języku angielskim. **Aneks**, zamykający rozprawę, zawiera zwięzły opis techniki spektroskopii w podczerwieni wraz z jej zastosowaniem w badaniach biologicznych i wykorzystaniem do analizy zmian biochemicznych w komórkach. W aneksie umieszczony jest także opis techniki monowarstw Langmuira, wprowadzanie w jej podstawy teoretyczne i wyjaśnienie sposobu charakterystyki oddziaływań międzycząsteczkowych.

Bibliografia obejmuje poprawnie dobranych 389 pozycji. Literatura jest aktualna i związana z zakresem prowadzonych eksperymentów.

Przeprowadzone badania, otrzymane wyniki i wyciągnięte na ich podstawie, odpowiednie wnioski, stanowią oryginalny udział Autorki w lepszym zrozumieniu działania biologicznego badanego flawonoidu. Mimo bardzo dobrej treści jak i formy, nie uniknięto też pewnych, nielicznych nieścisłości bądź uchybień, głównie o charakterze redakcyjnym, które nie umniejszają jednak wartości przedstawionej do recenzji pracy. Należą do nich:

- niezręczne frazy w pracy (np. str. 18 - ostatnie zdanie, str. 12, 28, 29, 49 - częściej używaną formą w j. polskim jest detoksykacja niż detoksyfikacja, str. 84 ostatnie zdanie w podrozdziale 3.2.1.1. – powinno być „rozpuszczono w chloroformie, uzyskując stężenie 2 mg/ml”);

- niepoprawne określenie procesu chromatograficznego „rozdziałem”, a nie „rozdzieleniem” chromatograficzny (str. 23, 24);

- niektóre gatunki (np. *Sophora flavescens* Ait.) wymieniane w części teoretycznej nie posiadają cytatu – nazwiska autora, wymaganego zgodnie z zasadami Międzynarodowego Kodeksu Nomenklatury botanicznej (ICBN); nazewnictwo takie wprowadził Karol Linneusz w 1735 r. i cały czas obowiązuje;

- niekonsekwencje w bibliografii, polegające na użyciu (głównie) skrótów nazw czasopism, a czasem ich pełnych form (pozycje 17, 22, 60, 124, 133, 148, 175, 242, 250, 263, 269, 316, 318, 322, 325, 378, 386, 388);

- nazwy rodzajowe i gatunkowe roślin pisze się kursywą, o czym Autorka zapomniała w bibliografii;

- nieliczne błędy edytorskie i tzw. „literówki” (np. str. 56, 209, 212).

Pragnę jednak podkreślić, iż wartość merytoryczna niniejszej rozprawy doktorskiej jest wysoka i świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu jej Autorki do dalszej pracy naukowej. Niezwykle wysoko oceniam rangę i znaczenie wielokierunkowych badań nad ksantohumolem, prowadzonych w zespole badawczym Pana prof. Mariusza Gagosa. Lektura dysertacji uprawnia mnie do stwierdzenia, że Pani mgr wykazała dobre zrozumienie zagadnień teoretycznych z zakresu tematu oraz opanowała szeregu nowatorskich technik niezbędnych w pracy doświadczalnej. Przedstawione w pracy doktorskiej wyniki badań oraz obszerna i zrozumiała, ale i krytyczna dyskusja, potwierdzają dojrzałość badawczą Doktorantki, jak i dociekliwość oraz umiejętność stawiania i rozwiązywania pytań/problemów natury naukowej. Przeprowadzony, długoterminowy eksperyment wymagał w jego początkowej fazie szczegółowo przemyślanych hipotez badawczych. Ten schemat, jasno postawionych kolejnych etapów badawczych, został zrealizowany bez zarzutu. Strona techniczna dysertacji została przygotowana w bardzo estetycznym układzie edytorskim i nie budzi moich zastrzeżeń. Rzetelnie dobrane piśmiennictwo wskazuje na pełne i wyczerpujące przygotowanie rozprawy.

Chciałabym również podkreślić, iż na uwagę zasługuje dotychczasowy całkowity dorobek naukowy Pani mgr, obejmujący prace opublikowane w czasopismach z Listy Filadelfijskiej (*Journal of Natural Products, Przemysł Chemiczny*).

Reasumując, stwierdzam że Doktorantka w Pełni wypełniła zadania jakie zostały postawione w celu pracy, a przedstawiona do recenzji dysertacja jest niezwykle wartościowa z naukowego i aplikacyjnego punktu widzenia, spełnia wszystkie kryteria i wymogi stawiane pracom doktorskim. W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie wniosek o dopuszczenie Pani mgr Barbary Gieroby do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie powyższej dysertacji.

Anna Oniszczyk

Anna Oniszczyk