

Sosnowiec, 28.06.2022r.

Katedra i Zakład Chemii
i Analizy leków

Wydział Nauk Farmaceutycznych
w Sosnowcu

Śląski
Uniwersytet Medyczny
w Katowicach

ul. Jagiellońska 4
41-200 Sosnowiec
www.chemialekow.sum.edu.pl

Dr hab.n.farm.
Artur Beberok, prof. SUM
tel.: (+48 32) 364 16 91
abeberok@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel./fax: (+48 32) 364 10 50
chemlek@sum.edu.pl



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Ocena pracy doktorskiej pt.

Ocena udziału mucyny 1 w procesie apoptozy wywołanej pirazolo-berenilowymi pochodnymi platyny(II) w komórkach raka żołądka i raka jelita grubego

wykonanej przez
mgr Katarzynę Supruniuk

w Zakładzie Chemii Medycznej
**Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

Rozprawa doktorska w oparciu o cykl publikacji naukowych w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

1. Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę rozprawy doktorskiej.

Osiągnięcie naukowe pt. „Ocena udziału mucyny 1 w procesie apoptozy wywołanej pirazolo-berenilowymi pochodnymi platyny(II) w komórkach raka żołądka i raka jelita grubego”, będące podstawą rozprawy doktorskiej, stanowi monotematyczny cykl 3 oryginalnych prac naukowych opublikowanych w latach 2021 – 2022.

Wartość współczynnika oddziaływania Impact Factor (IF) prac wynosi 16,214 co przekłada się na 300 punktów MNiSW. Wszystkie publikacje stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego Doktorantki zostały opublikowane w czasopismach znajdujących się w wykazie Journal Citation Reports (JCR): *International Journal of Oncology*, *Translational Oncology* oraz *Pharmaceutics*. Współczynnik oddziaływania IF tych czasopism jest zawarty w zakresie od 4,243 do 6,321. W przedstawionych jako osiągnięcie naukowe publikacjach mgr Katarzyna Supruniuk jest pierwszym współautorem. Doktorantka, jak i każdy współautor, złożył odpowiednie oświadczenia o swoim udziale w realizacji badań. Na ich podstawie można

stwierdzić, iż udział mgr Katarzyny Supruniuk w powstaniu osiągnięcia naukowego, na podstawie spójnego tematycznie cyklu prac opublikowanych w czasopismach naukowych, wynosił co najmniej 60% (60-70% udziału w przygotowaniu wyżej wymienionych publikacji naukowych).

Badania stanowiące podstawę publikacji były realizowane w Zakładzie Chemii Medycznej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Synteza pochodnych cis-platyny, badania z wykorzystaniem hodowli komórkowych oraz analizy metodą cytometrii przepływowej – stanowiące część panelu eksperymentalnego dwóch prac oryginalnych, były wykonane odpowiednio we współpracy z Zakładem Syntezy i Technologii Środków Leczniczych oraz Zakładem Biotechnologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Zagadnienia omówione w pracy poglądowej świadczą o dużej wiedzy i starannym przygotowaniu Pani mgr Katarzyny Supruniuk do podjęcia badań, będących podstawą Jej pracy doktorskiej, a także stanowią dobre wprowadzenie do postawionego celu badań.

Tytuł dysertacji Doktorantki został prawidłowo sformułowany i w pełni odzwierciedla cel badań. Wybór tematu pracy doktorskiej uważam za trafny, zgodny z kierunkiem współczesnych badań naukowych i aktualnym stanem wiedzy. Podejmowany problem uważam za uzasadniony, niezwykle ważny zarówno: i/ z punktu widzenia naukowego (w tym rozwoju chemii medycznej), ii/ znaczenia medycznego oraz iii/ społecznego, z uwagi na fakt, iż chemioterapia odgrywa kluczową rolę w leczeniu nowotworów. Ponadto, nowotwory stanowią drugą co do częstości, obok chorób układu krążenia, przyczynę zgonów na świecie. Dlatego jednym z priorytetów i celem dzisiejszej medycyny jest poszukiwanie aktywnych, selektywnych leków o ograniczonej cytotoksyczności w stosunku do prawidłowych komórek organizmu. Dodatkowo, literatura naukowa (zebrana również w pracy przeglądowej wchodzącej w skład rozprawy) wskazuje na ważną rolę przeciwciał monoklonalnych w skojarzeniu z chemioterapeutykami w leczeniu chorób nowotworowych. Ważną grupę potencjalnych leków przeciwnowotworowych mogą stanowić pirazolo-berenilowe kompleksy platyny (II). Dlatego indukcja apoptozy w połączeniu z ograniczeniem funkcji MUC1 (onkogenu, którego nadekspresja związana jest ze zwiększoną przeżywalnością komórek nowotworowych) może pozwolić na lepsze poznanie wpływu tej glikoproteiny na proces zaprogramowanej śmierci komórek nowotworowych i stanowić potencjalnie istotny cel molekularny.

Przedstawiony przez Doktorantkę cykl badań stanowi starannie zaplanowany i dobrze przemyślany panel eksperymentalny umożliwiający analizę złożonej hipotezy badawczej. Celem naukowym przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej była ocena roli MUC1 w procesie apoptozy indukowanej pochodnymi platyny(II) – PtPz4 i PtPz6 w komórkach raka żołądka linii CRL-1739 i raka jelita grubego linii DLD-1 i HT-29, w których funkcja onkogenu została ograniczona przez zastosowanie przeciwciała monoklonalnego anty-MUC1. Założony cel badań Doktorantka postanowiła zrealizować poprzez: i/ ocenę przeżywalności komórek z wykorzystaniem testu MTT, ii/ ocenę indukcji apoptozy przy użyciu cytometru przepływowego z zastosowaniem Aneksyny V znakowanej FITC, iii/ ocenę ekspresji genów i białek

proapoptotycznych i antyapoptotycznych metodą real-time PCR oraz Western Blot, iv/ ocenę ekspresji białka MUC1 oraz antygenów cukrowych metodą ELISA.

Na uwagę zasługuje fakt, iż Doktorantka w opisie osiągnięcia naukowego oprócz omówienia badań prowadzonych przy jej udziale odnosi się do najistotniejszych pozycji literaturowych, co daje możliwość poznania istoty prowadzonych badań.

Wyniki badań zawarte w publikacjach stanowiących podstawę ocenianego osiągnięcia naukowego są oryginalne. Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie uzasadnionych wniosków, korespondujących z założonym celem pracy i wnoszących nowe istotne informacje do aktualnego stanu wiedzy. Mgr Katarzyna Supruniuk wykazała, iż zastosowanie przeciwciała monoklonalnego anty-MUC1 znacząco ograniczyło funkcję onkogenu poprzez obniżenie jego ekspresji zarówno na poziomie mRNA jak i białka w badanych liniach komórkowych raka żołądka i jelita grubego. Ponadto, anty-apoptotyczne działanie MUC1, obniżone po zastosowaniu przeciwciała anty-MUC1 zostało potwierdzone następującymi wynikami prac eksperymentalnych:

i/ zastosowanie przeciwciał w skojarzeniu z kompleksami cis-platyny doprowadziło do pogłębienia wzrostu ilości komórek apoptotycznych w porównaniu do układów jednoskładnikowych,

ii/ skojarzone działanie przeciwciała i badanych związków wpłynęło w większym stopniu na wzrost ekspresji wybranych czynników pro-apoptotycznych i obniżenie ekspresji wybranych białek anty-apoptotycznych w porównaniu do monoterapii,

iii/ przeciwciało anty-MUC1 w połączeniu z pirazolo-berenilowymi kompleksami cis-platyny bardziej efektywnie indukowało aktywację kaspaz w porównaniu do modelu jednoskładnikowego.

Dodatkowo, w mojej opinii, ważnymi efektami prowadzonych badań było wykazanie iż:

i/ jednym z możliwych mechanizmów pro-apoptotycznego działania anty-MUC1 jest zahamowanie szlaku Akt, zahamowanie ekspresji NF- κ B oraz stymulację białka p53

ii/ zdolność skojarzonego modelu ekspozycji do obniżenia ekspresji nowotworowych antygenów cukrowych może wskazywać na pośredni udział analizowanych związków w apoptozie, gdzie glikoproteiny mogą interferować w kluczowe szlaki zaprogramowanej śmierci komórki.

Podsumowując, skojarzone działanie pochodnych platyny(II) z przeciwciałem monoklonalnym anty-MUC1 stanowi podstawę a zarazem potencjalną strategię dla terapii antynowotworowej raka żołądka i jelita grubego.

W tym miejscu, korzystając z przywileju recenzenta, z uwagi na w pełni uzasadnione osiągnięcia naukowe Doktorantki oraz aplikacyjny charakter przedstawionych wyników badań, pozwolę sobie zadać pytanie i/ o wskazanie możliwych kierunków dalszych badań w temacie będących przedmiotem rozprawy doktorskiej oraz ii/ czy planowane są dalsze prace z wykorzystaniem komórek prawidłowych celem wykazania selektywności działania przeciwciała anty-MUC1 w skojarzeniu z badanymi pochodnymi cis-platyny. Dodatkowo, chciałbym zapytać o kryterium doboru linii komórkowych do zaplanowanego panelu eksperymentalnego *in vitro*.

1. Ocena dorobku naukowego niewchodzącego w zakres rozprawy doktorskiej.

Poza cyklem publikacji będących podstawą do ubiegania się o stopień doktora, dorobek naukowy mgr Katarzyny Supruniuk jest znaczący i obejmuje współautorstwo w czterech publikacjach naukowych o wysokim współczynniku oddziaływania IF. Ponadto Doktorantka prezentowała swoje wyniki badań na zagranicznych i krajowych konferencjach naukowych. Na uwagę zasługuje fakt, iż na dwóch konferencjach międzynarodowych Pani Katarzyna Supruniuk wygłosiła prezentacje ustne. Dodatkowo, Doktorantka była Kierownikiem czterech projektów badawczych ściśle korespondujących z tematyką rozprawy doktorskiej.

2. Podsumowanie

Reasumując, przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Supruniuk włącza się w niezwykle istotny zarówno z punktu widzenia naukowego, jak i medycznego, nurt badań poświęconych poszukiwaniu potencjalnych nowych form terapeutycznych chorób nowotworowych. Ponadto uważam, że przedłożona przez Doktorantkę rozprawa, z uwagi na zaprezentowany poziom naukowy i wartości poznawcze oraz oparcie wysuniętych wniosków na obszernym materiale eksperymentalnym w pełni odpowiada wymogom ustawowym stawianym rozprawom doktorskim.

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

Jednocześnie, zważywszy na nowe elementy poznawcze zawarte w ocenianej rozprawie, zastosowanie złożonego panelu eksperymentalnego, a także bardzo ważne znaczenie praktyczne przedstawionych badań, proponuję wyróżnienie pracy.

Podsumowując, w nawiązaniu do powyższego, wyrażam opinię, że przedstawiona do recenzji praca odpowiada wymogom stawianym rozprawom na stopień naukowy doktora, co w konsekwencji upoważnia mnie do wystąpienia z wnioskiem do Kolegium Nauk Farmaceutycznych Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Supruniuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

PROFESOR SUM BADAWCZO-DYDAKTYCZNY
Katedry i Zakładu Chemii i Analizy Leków
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Artur Beberok
dr hab. n. farm. Artur Beberok prof. SUM