

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr farm. Karola Rólkowskiego

**pt.::, Wpływ metforminy na proces POX-zależnej apoptozy/autofagii w komórkach
czerniaka C32"**

Recenzowana praca doktorska Pana magistra farmacji Karola Rólkowskiego została wykonana w Zakładzie Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Promotorem pracy jest prof. dr hab. n. farm. Jerzy Pałka, a promotorem pomocniczym dr n. farm. Ilona Ościłowska.

Dysertacja przedstawia zagadnienia związane z oceną mechanizmów działania metforminy w procesach apoptozy komórek czerniaka C32 i w części była finansowana ze środków grantu Narodowego Centrum Nauki realizowanego w latach 2018-2021 – projekt OPUS nr. 2017/25/B/NZ7/02183.

Poszukiwanie nowych leków jest wyzwaniem dla każdego pokolenia i w tym zakresie istnieje wiele kierunków, które prowadzą do wyznaczonego celu. W ostatnich latach coraz częściej mówi się o lekach o różnych punktach uchwytu czy o lekach wielokierunkowych. Ta sama idea opisywana jest przez różne pojęcia i tak jak niepisany panaceum ówczesnego świata jest kwas acetylosalicylowy, tak i inne substancje bada się w kierunku poszukiwania nowego zastosowania. W przedstawionej do oceny pracy Doktorant bada metforminę. Substancję, której historia podobnie jak dla kwasu acetylosalicylowego sięga ponad 100 lat i na przestrzeni mijającego wieku wykazywano jej różne właściwości biologiczne. Samo działanie przeciwnowotworowe opisano po raz pierwszy w latach 70-tych ubiegłego wieku w zakresie działania na komórki nowotworowe piersi. Kolejne badania nad metforminą dotyczyły innych typów nowotworów. Do jednych z najciekawszych opracowań należy wykorzystanie metforminy do badania czerniaka, mimo braku badań prowadzonych w większym zakresie w tym obszarze. Część doniesień naukowych wskazuje jedynie jej znaczenie jako substancji o charakterze prewencyjnym w czerniaku zwłaszcza u osób z cukrzycą typu II. Prowadzone do tej pory badania wskazują, że stosując metforminę u pacjentów z cukrzycą typu II wykazało

niższe ryzyko zachorowalności na raka i równocześnie niższą śmiertelność. Wskazuje to konieczność prowadzenia dalszych badań nad możliwymi mechanizmami w tym zakresie. Zatem przedstawiona do oceny praca wpisuje się w trendy światowe badań nad szerokim zastosowaniem metforminy i zrozumieniem jej mechanizmów działania.

Oceniana praca doktorska ma układ typowy dla tego rodzaju prac. Treść rozprawy doktorskiej przedstawiona jest na 104 stronach maszynopisu, zawiera 40 rycin oraz 1 tabelę. Piśmiennictwo zawiera 253 trafnie dobrane pozycje literaturowe. Dobrane są one w sposób przemyślany i tematycznie związany z myślą przewodnią dysertacji. Należy podkreślić, że w dobie ogólnoswiatowego trendu związanego z korzystaniem z zasobów internetu i różnego pochodzenia stron internetowych Doktorant opierał się przede wszystkim na sprawdzonych i rzetelnych źródłach jakimi są publikacje naukowe i pozycje książkowe.

Dysertacja kolejno zawiera stronę tytułową, dedykację, spis treści, źródło finansowania oraz indeks skrótów. Następnie Doktorant przedstawia część teoretyczną pracy, która ma postać wstępu i przedstawiona jest na 15 stronach maszynopisu. Pan magister Rólkowski w tej części pracy w sposób syntetyczny i konkretny odniósł się do myśli przewodniej pracy. Scharakteryzował pokrótce dane dotyczące epidemiologii występowania czerniaka skóry oraz przytoczył podstawowe informacje dotyczące metforminy. Warto podkreślić to, że w tym miejscu Doktorant odnosi się bezpośrednio do celu swojej pracy uzasadniając na stronie 12 powód podjęcia się tematyki badania substancji leczniczej stosowanej w cukrzycy jako potencjalnego leku przeciwnowotworowego, którego dokładny mechanizm działania w tym kierunku nie jest znany. W dalszej części teoretycznej Doktorant opisuje potencjalną rolę poszczególnych elementów układów mających potencjalne znaczenie w mechanizmie działania przeciwnowotworowego metforminy.

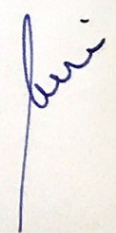
Cel Pracy został określony jako ocena porównawcza wpływu metforminy na procesy apoptozy i autofagii w komórkach czerniaka (C32-melanoma) i fibroblastach ludzkiej skóry. Dodatkowo Doktorant założył sprawdzenie hipotezy badawczej dotyczącej udziału PRODH/POX w mechanizmie autofagowego działania metforminy. Jest to spójne z częścią teoretyczną pracy, a braki w wiedzy powszechnej zasygnalizowane na wstępie zostały przez niego zebrane w 7 punktach. Świadczy to pozytywnie o Doktorancie, że po dogłębnej analizie literatury w sposób uporządkowany jest w stanie zaplanować pracę badawczą.



Część doświadczalna pracy podzielona jest na „Metody” oraz „Wyniki” i obejmuje 34 strony. Część metodologiczna została przygotowana precyzyjnie i zawiera dokładne opisy wykonywanych badań i analiz łącznie z przyjętą procedurą wykonywania analiz statystycznych. Jedyne to czego mi zabrakło to wyszczególnienie producentów poszczególnych odczynników, które Doktorant używał w badaniach. W kolejnej części dysertacji Doktorant przedstawia wyniki zaplanowanych badań. Rozdział podzielony jest na krótkie podrozdziały odnoszące się do poszczególnych analiz, które przedstawione są w postaci wykresów i kilku rycin z krótkim komentarzem. W tym zakresie czuje pewien niedosyt, ponieważ wiedząc, ile Doktorant musiał wykonać pracy ten rozdział mógłby być bardziej rozbudowany.

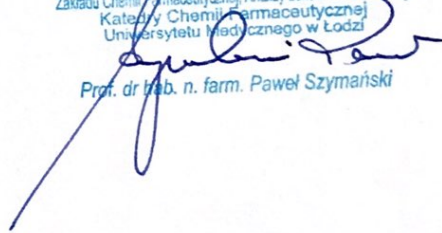
Całą analizę i interpretację otrzymanych wyników Doktorant przedstawił w rozdziale „Dyskusja”, gdzie otrzymane wyniki odniósł do doniesień literaturowych z danego obszaru. Należy przy tym zwrócić uwagę, że wnioski są formułowane prawidłowo, a dyskusja przeprowadzona została w sposób ciekawy i przedstawiający wszystkie aspekty mechanizmów związanych z metforminą pod kątem działania przeciwnowotworowego.

Wnioski Pana mgr farm. Karola Rólkowskiego są zwięzłe i konkretne, co jest zdecydowanie zaletą i podkreśla jego analityczny umysł. Należy również jednoznacznie stwierdzić, że wnioski przedstawione przez Doktoranta zdecydowanie mogą wpłynąć na opracowanie nowych standardów w leczeniu czerniaka. Doktorant wykazał przy tym, że w porównaniu do komórek fibroblastów ludzkiej skóry, metformina jest w większym stopniu cytotoksyczna w stosunku do komórek nowotworowych. Niezwykle istotne jest to, że w stosunku do linii komórek nowotworowych określono zdolność hamowania przez metforminę biosyntezy DNA. Jednocześnie Doktorant udowodnił, że w komórkach czerniaka metformina powoduje wzrost ilości komórek w fazie sub-G1 przy jednoczesnym zmniejszeniu ilości komórek w fazie G1. Przy czym substancja ta nasila ekspresję białek apoptotycznych oraz autofagowych. Istotne jest to, że w fibroblastach zjawiska te nie występują. Dodatkowo została zweryfikowana hipoteza badawcza dotycząca udziału PRODH/POX w mechanizmie autofagowego działania metforminy. Finalnie mgr Karol Rólkowski wykazał, że metformina indukuje PRODH/POX-zależną apoptozę/autofagię w komórkach czerniaka poprzez generowanie reaktywnych form tlenu. Analizując podjęta tematykę chciałbym poprosić Doktoranta o przedstawienie swojego zdania dotyczącego potencjalnego zastosowania metforminy (leku powszechnie stosowanego w leczeniu cukrzycy) jako leku



przeciwnowotworowego. Co należałoby zrobić i jakie jeszcze wykonać badania, aby można było w dokumentacji rejestracyjnej poszerzyć wskazania terapeutyczne. Czy jest możliwe aby tak skrajne kierunki działania metforminy (cukrzyca i choroba nowotworowa) mogły by być podstawą zarejestrowania jej jako jeden preparat o dwóch wskazaniach terapeutycznych?

Podsumowując, rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2021 r., poz. 478 ze zm.). Dysertacja przygotowana jest starannie bez większych błędów i uchybień edytorskich. Doktorant prawidłowo zaplanował badania i je przeprowadził. Dyskusja jest przygotowana starannie co wskazuje na duże umiejętności Doktoranta w analizie danych i korelowania ich z doniesieniami literaturowymi. Natomiast zakres badań wskazuje na duże umiejętności praktyczne Doktoranta i opanowanie przez niego szerokiego warsztatu technicznego. Tym samym wnoszę do Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie magistra farmacji Karola Rólkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

KIEROWNIK
Pracowni Radiofarmacji
Zakładu Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji
Katedry Chemii Farmaceutycznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Prof. dr hab. n. farm. Paweł Szymański