

Ocena pracy doktorskiej pt.:

**WPŁYW WYBRANYCH POLIFENOLI
WCHODZĄCYCH W SKŁAD PROPOLISU
NA PROCES APOPTOZY KOMÓREK RAKA
PŁASKONABŁONKOWEGO JAMY USTNEJ**

wykonanej przez

mgr Katarzynę Celińską-Janowicz

w Samodzielnej Pracowni Analizy Leków

Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Część twarzową czaszki charakteryzuje: i/ duże nagromadzenie szeregu wyspecjalizowanych struktur tkankowych, ii/ dobre unaczynienie oraz iii/ skrzyżowanie dróg chłonnych, co daje sprzyjające warunki dla wzrostu wielu zróżnicowanych form nowotworów. Nowotwory złośliwe jamy ustnej to bardzo różnorodna grupa nowotworów, w której dominują raki płaskonabłonkowe. Oprócz nich występują tu również chłoniaki, mięsaki, guzy z małych gruczołów ślinowych, złośliwe guzy zębopochodne oraz czerniaki.

Metodą z wyboru leczenia chorych na raka jamy ustnej jest chirurgiczne usunięcie guza pierwotnego z szerokim marginesem makroskopowo niezmiennych tkanek, co w obrębie jamy ustnej jest trudne, a często wręcz niemożliwe do wykonania. Konieczne zatem są intensywne badania, których celem jest opracowanie nowych, efektywnych metod leczenia chorych na zaawansowane postaci raków jamy ustnej.

Katedra i Zakład Chemii
i Analizy Leków

Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny
Laboratoryjnej
w Sosnowcu

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

Dr hab. n. farm
Dorota Wrześniok
dwrzesniok@sum.edu.pl
tel.: (+48 32) 364 16 14

Wcześniejsze badania dotyczące jakościowej oceny składu propolisu, metodą opracowaną w Samodzielnej Pracowni Analizy Leków Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wykazały, że związkami chemicznymi o charakterze polifenoli, występującymi w propolisie, w największej ilości, są : chryzyna, pinocembryna, galangina, kwas ferulowy, kwas kawowy oraz kwas *p*-kumarowy.

Uzasadnionym zatem **Celem badań**, przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej Pani Magister Katarzyny Celińskiej-Janowicz, była ocena wpływu wybranych polifenoli (chryzyna, galangina, pinocembryna, kwas kawowy, kwas *p*-kumarowy, kwas ferulowy) będących składnikami propolisu na proces apoptozy w komórkach raka płaskonabłonkowego jamy ustnej (CAL-27).

Podejmowany problem uważam za istotny i interesujący zarówno z punktu naukowego jak i znaczenia medycznego, gdyż poszukiwanie nowych rozwiązań terapeutycznych, wykazujących możliwie jak największą skuteczność, przy uwzględnieniu wieloczynnikowego charakteru procesu nowotworzenia, wzbudza z oczywistych względów zainteresowanie nie tylko klinicystów.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska obejmuje 107 stron tekstu wraz z piśmiennictwem. Tekst pracy podzielony jest na typowe dla opracowań naukowych rozdziały, z zachowaniem właściwych pomiędzy nimi proporcji. Dodatkowo w pracy zamieszczono **Wykaz skrótów** stosowanych w tekście pracy, znacząco ułatwiających jej lekturę. Omówione we **Wstępie** zagadnienia pozwalają wnioskować dobre przygotowanie Doktorantki do podjęcia badań, będących podstawą Jej pracy doktorskiej, a także stanowią wyczerpujące temat przedstowie jasno sformułowanego i przekonująco uzasadnionego celu badań.

Zaproponowany przez Doktorantkę cykl badań stanowi dobrze zaplanowany i przemyślany panel eksperymentalny umożliwiający analizę założonej hipotezy badawczej. Realizacja postawionego celu pracy wymagała przeprowadzenia badań z wykorzystaniem hodowli komórek raka płaskonabłonkowego jamy ustnej (CAL-27), w tym i/ oceny cytotoksyczności badanych polifenoli, ii/ pomiaru biosyntezy DNA i kolagenu jak również: i/ oznaczenia stężenia proliny w komórkach metodą LC-MS oraz ii/ oznaczenia aktywności prolidazy. W kolejnych etapach został przeprowadzony i/ elektroforetyczny rozdział białek na żelu poliakrylamidowym, ii/ analiza białek metodą „Western Immunoblot” oraz iii/ analiza poziomu tioli komórkowych z wykorzystaniem fluorescencyjnego cytometru obrazowego NucleoCounter®NC-3000™.

Szczegółowy opis warunków prowadzenia hodowli komórek raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i zastosowanych metod badawczych, wraz z wykazem

stosowanych odczynników chemicznych Doktorantka zamieściła w rozdziale **Materiały i metody**. Rozdział ten zakończony jest informacją na temat zastosowanych w pracy metod analizy statystycznej niezbędnych do oceny uzyskanych wyników.

Uzyskane **Wyniki** badań zostały poprawnie zredagowane na 31 stronach pracy i udokumentowane na szczegółowo opisanych rycinach. W tej części Autorka dokonuje i/ uzasadnienia doboru stężeń badanych polifenoli, ii/ zasadniczego omówienia wyników jak również iii/ wysuwa po każdym cyklu badań wnioski cząstkowe.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka przedstawiła dowody stanowiące podstawę nowego mechanizmu indukcji apoptozy przez badane składniki propolisu w komórkach raka płaskonabłonkowego jamy ustnej CAL-27. Niezaprzeczalną nowością tej pracy jest odkrycie możliwości aktywacji oksydazy prolinowej, jako czynnika indukującego apoptozę w analizowanych komórkach, co pozwala wskazać PRODH/POX, jako potencjalny cel nowej strategii leczenia raka płaskonabłonkowego jamy ustnej.

W rozdziale **Dyskusja** Autorka dokonała interpretacji uzyskanych wyników badań oraz skonfrontowała wyniki własne z hipotezami i badaniami przedstawionymi w adekwatnej literaturze przedmiotu. Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie pięciu uzasadnionych **Wniosków**, wnoszących nowe istotne informacje do aktualnego stanu wiedzy i świadczących o tym, iż założony cel pracy został zrealizowany.

Cytowane przez Doktorantkę 176 pozycji **Piśmiennictwa** naukowego w większości anglojęzycznego, zostało zadowalająco dobrane tematycznie. Jednakże chciałam w tym miejscu zwrócić uwagę, na zauważalny brak konsekwencji w cytowaniu artykułów naukowych, który nie wpływa w żadnym wypadku na wartość merytoryczną rozprawy, ale na tym etapie rozwoju naukowego Doktorantki, z obowiązku recenzenta pragnę zauważyć, iż strona edycyjna prac naukowych wymaga staranności i uwagi.

Rozprawa doktorska została zakończona **Streszczeniem** w języku polskim i angielskim. Niemniej jednak niektóre zagadnienia nasuwają pytania, które mogą stanowić przedmiot dyskusji, na przykład:

- i/ jakie argumenty przeważyły na korzyść wyboru przez Doktorantkę tej konkretnej linii komórkowej do badań – uprzejmie proszę o uzasadnienie swojej decyzji w tym przedmiocie;
- ii/ w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem linii nowotworowych niezwykle ważnym elementem jest dobór komórek kontrolnych i skonfrontowanie wyników badań własnych przeprowadzonych na komórkach nowotworowych z badaniami przeprowadzonymi z wykorzystaniem komórek prawidłowych. Zatem pytanie, które

nasuwa się - czy takie badania zostały przeprowadzone bądź są planowane w przyszłości?

Sformułowanie powyższych pytań wynika jedynie z przywileju recenzenta, z którego skorzystałam, i w żadnym wypadku pytania te nie mają charakteru uwag krytycznych, mogą natomiast stanowić inspirację do dyskusji nad potencjalnym wykorzystaniem wyników badań w eksperymentalnej terapii przeciwnowotworowej.

Reasumując wyrażam opinię, że przedstawiona do recenzji praca odpowiada wymogom stawianym rozprawom na stopień doktora i wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, o jej przyjęcie i dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Celińskiej-Janowicz, do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

ADIUNKT
Katedry i Zakładu Chemii i Analizy Leków
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Wrześniak Dorota
dr hab. n. farm. Dorota Wrześniak