

Wiel 07.09.2017
M. Podhorska-Okolow
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Prodziekan ds. Nauki
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okolow

Prof. dr hab. Wiesław Stręk

Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych

Polska Akademia Nauk, Wrocław

Recenzja rozprawy doktorskiej lekarz Barbary Ewy Ziółkowskiej

„Ocena markerów autofagii w komórkach raka jelita grubego przed i po zastosowaniu terapii fotodynamicznej z użyciem kwasu 5-aminolewulinowego”

Lekarz Barbara Ziółkowska (1984) ukończyła studia na wydziale lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w 2009 r. Pracuje jako starszy asystent w Oddziale Chemioterapii w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu, a jednocześnie od 2012 r. jest doktorantką w ramach Studium doktoranckiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii, kierowanym przez prof. dr hab. n. med. Piotra Ziółkowskiego, który jest promotorem rozprawy.

Temat rozprawy doktorskiej lek. Barbary Ziółkowskiej jest ocena zastosowania markerów autofagii w komórkach raka jelita grubego przed i po zastosowaniu terapii fotodynamicznej z użyciem kwasu 5-aminolewulinowego (Ala). Rozprawa liczy 112 stron i składa się z 11 rozdziałów. Pomijając techniczne rozdziały, jak wykaz stosowanych skrótów (str.7-12), spis tabel i rycin (str. 111-112), składa się z części teoretycznej, eksperymentalnej i dyskusji uzyskanych wyników. Rozdział II Wstęp (13-53) jest starannie przemyślanym wprowadzeniem do przedmiotu badań. Składa się z trzech obszernych podrozdziałów, w których doktorantka przedstawiła złożone mechanizmy terapii fotodynamicznej (podrozd. 2.1 str. 13-29), mechanizm autofagii (podrozd. 2.2 str. 30-41) oraz informacje dot. raka jelita grubego (podrozd. 2.3 str. 23-53). Z częścią teoretyczną jest związana bardzo obszerna literatura tematyki rozprawy, która uzupełnia omawiane zagadnienia.

Zwykle w swoich recenzjach rozpraw doktorskich nie przywiązywałem większej uwagi do części teoretycznej, traktując tą część pracy jako mniej lub bardziej standard, zebranie podstawowych informacji o metodyce pracy. Z uwagi na moje kompetencje moja uwaga i ocena i ewentualna krytyka dotyczyłyby tylko mechanizmów foto-fizyko-chemicznych fotodynamicznej

terapii. W recenzowanej pracy lek. B. E. Ziółkowskiej dostrzegłem szerszej przemyślaną koncepcję celów pracy, połączenia mechanizmów fizykochemicznych terapii fotodynamicznej ze złożoną odpowiedzią biologiczną, skupiając ciężar dyskusji na procesie autofagii.

Ostatni podrozdział 2.3.8 Rokowanie raka jelita grubego str.53 niestety został bardzo zdawkowo potraktowany (cztery zdania tylko!).

Cel i założenia pracy zostały przedstawione w Rozdz. 3,(str. 54). Autorka, zwracając uwagę na obiecujące zastosowanie terapii fotodynamicznej w leczeniu i diagnostyce nowotworów jelita grubego, skupia się na ocenie skuteczności metody PDT, stosując jako fotosensybilizator 5-ALA-PDT oraz procesu autofagii w komórkach linii raka gruczołowego, wpływie reakcji PDT na wywołanie procesu autofagii, ocenie markerów autofagii.

W rozdziale 4. **Materiały i Metody** autorka przedstawiła informacje o linii komórkowej raka jelita grubego SW620 otrzymanej w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, która zastosowała w swoich badaniach fotodynamicznych. Opisała przeprowadzone eksperymenty: sposób naniesienia komórek raka i połączenia z kwasem 5-aminolewulinowym, zastosowane źródło światła, którym była lampa halogenowa z filtrem czerwonym, przepuszczającą światło o długości fali 630 ± 30 nm, wyznaczając dawkę energii i czas naświetlania. W tym miejscu mam uwagę: zamiast używać wyrażenia: „moc promieniowania” w jednostkach J/cm^2 , poprawniej jest używać nazwy „gęstość energii” i dalej zamiast *dawka energii promieniowania* wynosiła $60 mW/cm^2$, winno być „gęstość mocy”. *Zabrakło mi w opisie eksperymentu naświetlania informacji, jak czas naświetlania wpływał na temperaturę zawiesziny komórek nowotworowych. Czy kontrolowała temperaturę?* Następnie autorka przedstawiła procedury zastosowane dla oceny przeżywalności komórek po podaniu sensybilizatora i zastosowaniu PDT oraz badania immunohistochemiczne, analizę Western blot oraz analizę statystyczną wyników.

W rozdziale 5 **Wyniki** autorka przedstawiła uzyskane rezultaty z badań immunohistochemicznych ekspresji białek markerów autofagii po procedurze PDT po upływie określonego czasu. Pozwoliły one na wyciągnięcie wniosków, że proces PDT z prekursorem 5-ALA jest skuteczny w niszczeniu komórek raka jelita grubego, zaobserwowano specyficzny wzrost ekspresji markerów makrofagi narastający w czasie, co pozwoliło autorce pracy wnioskować, że

komórki raka umierają w wyniku autofagii. Jednakże wymagane są, jej zdaniem, dalsze badania oceny mechanizmu tego procesu.

W rozdziale 7 **Dyskusja** str. 80-85 autorka przedstawiła krótko omówienie uzyskanych rezultatów. Najważniejszym stwierdzeniem jest, że wyniki pracy udowodniły znaczenie autofagii w procesie śmierci komórek na skutek fotodynamicznej reakcji, jednak wskazuje mechanizm łączący oba procesy jest niejasny i wymaga dalszych badań.

W rozdziale 8 **Streszczenie** (może lepiej byłoby Podsumowanie) autorka określiła założenia badawcze (cel pracy) i omówiła uzyskane najważniejsze rezultaty, podkreślając rolę i znaczenie procesu autofagii w indukowaniu śmierci badanej linii komórkowej raka jelita grubego SW620 po zastosowaniu reakcji PDT. Streszczenie wyników pracy w języku angielskim jest przedstawione w rozdziale 9 **Summary** (str. 88-89).

W rozdziale 10 **Piśmiennictwo** (str.90-110) jest zestawiona literatura przedmiotu badań, w którym autorka zebrała imponująca liczbę publikacji i doniesień naukowych - 262 pozycje. Świadczy to o głębokiej znajomości tematyki badawczej doktorantki i poważnym podejściem do prowadzonych prac. Osobno jako końcowy rozdział pracy autorka zestawiała spis tabel i rysunków.

W podsumowaniu swojej recenzji mogę z pełną odpowiedzialnością przedstawić swoją pozytywną, wysoką ocenę pracy doktorskiej lek. Barbary Ziółkowskiej. Uzyskane rezultaty są oryginalne i wnoszą istotny wkład w poznaniu mechanizmów reakcji fotodynamicznej przez powiązanie jej procesami autofagii w indukowaniu śmierci komórek nowotworu na przykładzie raka jelita grubego. Mam przekonanie, że autorka pracy będzie kontynuowała badania w tej tematyce. Wyniki badań lek. B. Ziółkowskiej były przedmiotem czterech prac naukowych (w tej liczbie jedna w druku), opublikowanych w renomowanych czasopismach międzynarodowych, jak: „Oncology in Clinical Practise”, „Molecular Medicine Reports” i „Oncotarget”.

Zaznajamiając się z dorobkiem zawodowym i naukowym lek. Barbary Ziółkowskiej jestem niezmiernie pozytywnie zaskoczony Jej intensywnym rozwojem, ilością odbytych kursów specjalistycznych, egzaminów z onkologii klinicznej w tym zagranicznych, staży i praktyk (Niemcy, Dania, Węgry, Szwajcaria, Rosja, Belgia, Hiszpania, Singapur, Włochy, Wielka Brytania). Uczestniczyła też w realizacji dwóch projektów naukowych. Przewiduję, że lek.

Barbara Ziółkowska ma przed sobą kolejne owocne etapy w rozwoju swej kariery naukowej.

Na zakończenie swej recenzji stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska lek. Barbary Ziółkowskiej „Ocena markerów autofagii w komórkach raka jelita grubego przed i po zastosowaniu terapii fotodynamicznej z użyciem kwasu 5-aminolewulinowego” spełnia w pełni warunki art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych u tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, późn. zm.) i wnoszę o dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Wiesław Strek



Wrocław, dn. 22.08.2017 r.