



Zamość, 20.08.2016

Ocena rozprawy na stopień doktora mgr inż. Iwony Kamińskiej: Ocena wpływu potranslacyjnej modyfikacji białka p53 na wrażliwość komórek raka jajnika na chemioterapeutyki.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Iwony Kamińskiej Ocena wpływu potranslacyjnej modyfikacji białka p53 na wrażliwość komórek raka jajnika na chemioterapeutyki liczy 96 stron, z których 83 stanowi zasadniczy tekst a pozostałe to 99 pozycji cytowanego, przeważnie anglojęzycznego, piśmiennictwa oraz streszczenia w języku polskim i angielskim.

Rozprawa składa się ze wstępu, w którym przedstawiono aktualne dane epidemiologiczne, morfologiczny oraz kliniczny podział na stopnie zaawansowania raka jajnika. W kolejnych podrozdziałach wstępu przedstawiono metody leczenia oraz problem chemiooporności w tej grupie nowotworów. W ostatniej części wstępu skupiono się na scharakteryzowaniu białka p53 i jego roli w leczeniu nowotworów.

Cel pracy został przedstawiony jasno i jednoznacznie. W rozdziale materiał i metody przedstawiono charakterystykę materiału biologicznego uzyskanego od chorych oraz dwie hodowle linii komórkowych OvBH-1 i SW626. Do oceny procesów proliferacji i śmierci komórek nowotworowych po ekspozycji na cytostatyki zastosowano test MTT. Oceniono również strukturę morfologiczną komórek przed i po zadziałaniu cytostatyków. W rozdziale wyniki przedstawiono cechy morfologiczne i biologiczne komórek raka jajnika przed i po chemioterapii, wyniki testu MTT oraz wpływ cytostatyków na komórki macierzyste. Dyskusja, wnioski i streszczenia oraz cytowane piśmiennictwo były kolejnymi rozdziałami pracy.

Rak jajnika jest dość często występującym nowotworem u kobiet (5% zachorowań), a ze względu na późną wykrywalność spowodowaną brakiem wczesnych objawów choroby oraz agresywnym przebiegiem klinicznym jest czwartą pod względem częstości z przyczyn zgonów na nowotwory. Zgodnie z danymi WHO raki jajnika dzieli się na surowicze, śluzowe, endometrioidalne, jasnokomórkowe, Brennera, mieszane i nieodróżnicowane. Podstawą leczenia pierwotnego jest postępowanie skojarzone, które obejmuje leczenie chirurgiczne i niemal zawsze chemioterapię (jedynie w stopniach zaawansowania IA i IB nie ma wskazań do przeprowadzenia uzupełniającego leczenia systemowego). Stosowanie pochodnych platyny i taksoidu jest standardem pooperacyjnej chemioterapii. Pomimo agresywnego leczenia cytostatykami, często z dodatkiem przeciwciała monoklonalnego - inhibitora angiogenezy - Bevacizumabu wyniki leczenia są niezadawalające, a wznowy choroby lub niepełne remisje bardzo częste. Za główną przyczynę niepowodzeń leczenia uznaje się platynoniewrażliwość lub platynooporność pewnej frakcji komórek raka jajnika. Jednak dotychczas nie udało się



Instytut Technologii i Edukacji

wyłączyć grupy pacjentek, u których standardowe leczenie może okazać się nieskuteczne. Dlatego też trwają szeroko zakrojone badania mające na celu określenie cech biologicznych tego nowotworu, które skutkowałyby poprawą skuteczności leczenia. Jedną z przyczyn platynooporności komórek raka jajnika może być obecność nieprawidłowej formy lub brak aktywacji białka p53.

Doktorantka skupiła się w swojej pracy nad oceną fosforylacji białka p53 w pozycji seryna 15, seryna 20 i seryna 392 w aspekcie wrażliwości na cytostatyki komórek raka jajnika izolowanych z płynu otrzewnowego pobranego od chorych na nowotwór. Materiał porównawczy stanowiły dwie linie komórkowe: raka jasnokomórkowego jajnika – OvBH-1 oraz przerzutu do jajnika raka jelita grubego – SW626. Szkoda, że materiał porównawczy linii komórkowych nie mógł zawierać tego samego co próbki badane podtypu histologicznego raka jajnika, ale ze względu na fakt, że identyczne cytostatyki są stosowane we wszystkich podtypach raka jajnika, a schematy i intensywność chemioterapii zależą od stopnia zaawansowania nowotworu - ten dysonans nie może mieć wpływu na wyniki dysertacji.

W ocenie cech morfologicznych komórek raka zarówno w materiale pobranym od chorych jak i w liniach komórkowych przed i po zastosowaniu cytostatyków najwyższą przeżywalność odnotowano po podaniu cisplatyny, a najniższą wykazała kamptotecyna. Niestety kamptotecyna nie weszła do arsenału leków przeciwnowotworowych z powodu towarzyszących jej nieprzewidywalnych i poważnych działań niepożądanych. Stosowane obecnie nowe inhibitory topoizomerazy I (irinotekan i topotekan) mają lepszy profil tolerancji i są aktywne w wielu nowotworach – między innymi w raku jajnika. Ciekawa i warta kontynuowania badań jest znaczna różnica w przeżywalności komórek raka jajnika po zastosowaniu paklitaxelu w grupach chorych w III i IV stopniu zaawansowania choroby. Jeżeli rozkład cytowanych danych nie jest przypadkowy to można przypuszczać, że wraz z pojawieniem się rozsiewu krwiopochodnego dochodzi w niektórych komórkach raka jajnika do zjawisk immunobiochemicznych, które powodują wzrost oporności na taksany. Wprawdzie zmiany w morfologii komórek nowotworowych po zadziałaniu cytostatyków były takie same w materiale uzyskanym od chorych i z linii komórkowych ale moim zdaniem, nie upoważnia to doktorantki do stwierdzenia, że ustabilizowane linie komórkowe raka jajnika są miarodajnym materiałem do oceny skuteczności chemioterapii. Co roku koncerny farmaceutyczne prowadzą badania nad tysiącami nowych związków chemicznych będących potencjalnymi cytostatykami jednak dopiero badania kliniczne II i III fazy weryfikują dane otrzymane z badań laboratoryjnych na liniach komórkowych i tylko kilka z nich co roku zostaje dopuszczonych do stosowania jako leki.

Niezwykle interesujące są zależności pomiędzy przeżywalnością komórek ocenianą w testach MTT a obecnością w tych komórkach białek proapoptycznych. Sugestia doktorantki na możliwość indukcji apoptozy i wzrostu wrażliwości na chemioterapię w komórkach raka jajnika z jądrową lokalizacją białka p53 z jednoczesną fosforylacją w pozycji seryna 15 i 20 uważam za bardzo trafną, ale wymagającą badań na szerszym materiale. Ponadto ciekawe spostrzeżenie dotyczy różnej liczby komórek macierzystych w badanych liniach komórkowych. Czyżby znaczenie miał fakt, że jedna pochodzi z pierwotnego nowotworu, a druga z przerzutu do jajnika? Odmienne reakcje na cytostatyki komórek macierzystych znajdujących się w liniach komórkowych i





Instytut Technologii i Edukacji

pochodzących z płynu otrzewnowego są niezmiernie interesujące i mogące być przyczynkiem do wyjaśnienia faktu, że tylko niewielki promil aktywnych substancji cytotoksycznych działających *in vitro* znajduje zastosowanie w klinice nowotworów.

Doktorantka omówiła bardzo szczegółowo wyniki analiz umiejętnie nawiązując do najnowszej literatury przedmiotu. Dyskusja nad rezultatami badań jest wszechstronna, wyważona i krytyczna. Wyniki własne zostały umiejętnie porównane z danymi z piśmiennictwa, co świadczy o dojrzałości naukowo-badawczej, wiedzy i zdolności do logicznego formułowania ocen. Na podstawie ostrożnej oceny wyciągnięto wnioski, które całkowicie spełniają przyjęty cel pracy.

Na koniec zwracam uwagę na drobne uchybienie przy redagowaniu pracy; w materiałach i metodach dublują się numery podrozdziałów 3.2 i 3.3, ale nie umniejsza to wartości pracy.

Całość recenzowanej dysertacji oceniam bardzo wysoko. Pełna realizacja postawionego celu pracy oparta na analizie własnego materiału, zastosowanie właściwego instrumentarium merytorycznego i statystycznego, a także swobodne poruszanie się przez Autorkę w temacie badań pozwalają mi z pełnym przekonaniem stwierdzić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Iwony Kamińskiej spełnia w całości warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Kieruję do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie mgr inż. Iwony Kamińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wnioskuję o wyróżnienie pracy.