

OCENA

Rozprawy doktorskiej mgr Grzegorza Michała Adamczuka pt.: „Ocena wpływu związków zaburzających funkcję mitochondriów na radiowrażliwość oraz cytotoksyczność klasycznych cytostatyków wobec wybranych linii komórek raka prostaty”.

Praca została wykonana w Katedrze i Zakładzie Toksykologii, Uniwersytetu Medycznego w Lublinie pod kierunkiem promotora Pana prof. dr hab. n. med. Jarosława Dudki oraz promotora pomocniczego Pani dr hab. n. med Agnieszki Korga-Plewko.

Choroby nowotworowe, pomimo postępu metod diagnostycznych i coraz to nowych sposobów leczenia, wciąż stanowią drugą co do częstości przyczynę zgonów. W przypadku bardzo wielu nowotworów klasyczne możliwości terapeutyczne czy metody radykalnej chirurgii nie zawsze pozwalają na wyleczenie pacjenta. Przykładem takiego nowotworu jest właśnie rak gruczołu krokowego, który w Polsce jest drugim co do częstości występowania u mężczyzn nowotworem złośliwym. Trwałe wyleczenie pacjentów z rakiem gruczołu krokowego po przeprowadzonej interwencji chirurgicznej (prostataktomia radykalna) lub zastosowaniu radioterapii w skojarzeniu z hormonoterapią uzyskuje się kiedy nowotwór jest rozpoznany w stadium miejscowego zaawansowania. Istotny problem kliniczny stanowi natomiast zaawansowany miejscowo lub już przerzutowy rak tego narządu oporny na kastrację. Jako główną przyczynę niepowodzeń w systemowej terapii przeciwnowotworowej u takich pacjentów upatruje się m.in. w zjawisku oporności. Niezadawalające wyniki leczenia chorych na zaawansowanego raka gruczołu krokowego opornego na kastrację przyczyniły się do poszukiwań nowych strategii leczenia. Jedną z takich propozycji może być kojarzenie terapii klasycznej – chemioterapii i/lub radioterapii np. ze związkami zakłócającymi funkcjonowanie mitochondriów komórek nowotworowych. Tak więc badania zaplanowane i wykonane przez Pana mgr Grzegorza Adamczuka w ramach przedstawionej rozprawy doktorskiej wpisują się z jednej strony w kierunek poszukiwań efektywnej strategii ingerującej w przemianę glikolizy komórek nowotworowych, co może prowadzić do ich śmierci, a z drugiej mogą być pomocne w zrozumieniu jednego z wielu mechanizmów występującej oporności u pacjentów z rakiem gruczołu krokowego.

Praca doktorska mgr Grzegorza Adamczuka została przygotowana w formie maszynopisu liczącego 138 stron. Dysertacja ma typowy układ stosowany w rozprawach doktorskich z podziałem na następujące rozdziały: wstęp, cel pracy, materiały i metody, omówienie wyników i dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i języku angielskim oraz bibliografia. Praca zawiera wykaz skrótów, 8 figur, 41 rycin oraz 6 tabel. Piśmiennictwo obejmuje 224 pozycje, w większości oryginalnych, aktualnych publikacji literaturowych,

pochodzących w większości z ostatnich 10 lat. Szkoda, że Doktorant nie zamieścił informacji na temat swojego dotychczasowego dorobku i osiągnięć naukowych.

Zasadniczym celem ocenianej pracy była ocena uwrażliwienia trzech linii komórek raka prostaty pochodzenia ludzkiego (PC-3, DU-145 oraz LNCaP) na klasyczne cytostatyki (15 leków) oraz promieniowanie X za pomocą wybranych trzech modelowych związków zaburzających funkcję mitochondriów o odmiennych mechanizmach działania (tj. 2,4-dinitrofenol, etanol oraz cyjanek potasu). Dodatkowo, w oparciu o zużycie egzogennej glukozy, syntezę mleczanu i spadek stężenia ATP pod wpływem 2,4-dinitrofenolu, Doktorant podjął się próby zdefiniowania klasyfikacji fenotypów metabolicznych badanych linii komórkowych, a także powiązania ich z efektem synergii. Podstawą do tak sformułowanego celu badawczego było założenie, że wrażliwość na związki zaburzające oddychanie mitochondrialne będzie zróżnicowana dla populacji komórek tego samego typu nowotworu o zróżnicowanym stopniu aktywacji glikolizy. Komórki nowotworowe, mimo dostępności tlenu, aktywują glikolityczny szlak pozyskiwania energii – zjawisko to jest znane i nosi nazwę „efektu Warburga”. Taki wzrost glikolizy w przemianach energetycznych sprawia, że komórka nowotworowa wykazuje znacznie większe zapotrzebowanie na glukozę. Jakkolwiek efekt taki jest stwierdzany w większości nowotworów, to - jak słusznie wskazuje Autor dysertacji - przypadek raka prostaty może być inny. Wynika to z faktu, iż prawidłowe komórki prostaty cechuje niski poziom fosforylacji oksydacyjnej, który jest równoważony zwiększoną szybkością glikolityczną. Stąd zaplanowana przez Doktoranta ocena fenotypu metabolicznego linii komórek nowotworowych prostaty jest bardzo istotnym elementem badań, ponieważ uzyskane wyniki mogą się istotnie przyczynić do wyjaśnienia złożonego mechanizmu często występującej oporności komórek nowotworowych prostaty na chemio- i radioterapię.

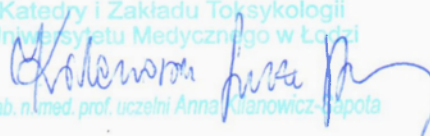
W części teoretycznej pracy (wstęp) Doktorant ogólnie omówił zagadnienia związane z morfologią oraz etiologią raka prostaty, w tym przedstawił dane epidemiologiczne, czynniki ryzyka powstawania tego nowotworu, scharakteryzował główne objawy kliniczne, omówił krótko klasyfikację wykorzystywaną do oceny stopnia zaawansowania procesu nowotworowego, jak i wyboru postępowania terapeutycznego. Scharakteryzował stosowane obecnie metody leczenia oraz ich ograniczenia, a także strategie terapeutyczne w oparciu m.in. o stosowanie klasycznych cytostatyków. Autor w interesujący sposób przedstawił potencjalne możliwości farmakologiczne leczenia raka prostaty w oparciu o znajomość fenotypu metabolicznego nowotworu oraz nowe kierunki badań nad nowotworem prostaty. Ostatni podrozdział części teoretycznej Autor poświęcił omówieniu znaczenia zaburzenia funkcji mitochondrium przez czynniki modelowe wybrane do badań w swojej pracy jako potencjalny punkt uchwytu dla ewentualnych leków przeciwnowotworowych. Jest to ważny aspekt, ponieważ odgrywa istotną rolę także we wzroście nowotworu, jego progresji, czy nabywaniu oporności na stosowane u pacjentów leczenie.



W części doświadczalnej rozprawy Autor bardzo dokładnie opisał przygotowanie i przeprowadzenie poszczególnych etapów swoich badań, co potwierdza, że potrafi zaplanować pracę naukową, a następnie rzetelnie ją wykonać. Badania cytotoksyczności wybranych leków przeciwnowotworowych lub promieniowania X Autor przeprowadził za pomocą klasycznych testów, tj. MTT i CVS. Ocenę fenotypu metabolicznego zastosowanych linii komórkowych dokonał na podstawie pomiaru stężeń glukozy oraz mleczanu. Za pomocą barwienia fluorescencyjnego w badanych komórkach Doktorant ocenił także zagęszczenie mitochondriów oraz stopień zahamowania syntezy ATP pod wpływem działania 2,4-DNP. Aby zrealizować podstawowy cel badawczy Doktorant przeprowadził analizę cyklu komórkowego, co pozwoliło określić wielkość populacji komórek w poszczególnych etapach cyklu, a także potwierdzić ewentualny efekt synergii. Zastosowane przez Doktoranta metody są właściwie dobrane i pozwoliły w pełni na realizację zaplanowanych celów. Uzyskane z poszczególnych etapów wyniki Autor poddał analizie statystycznej i przedstawił w rozdziale „Wyniki” w formie graficznej w postaci przejrzystych rycin (41). Interpretacja uzyskanych wyników także nie budzi zastrzeżeń, chociaż są one opisane bardzo skrótowo. Na uznanie natomiast zasługuje także fakt, że Doktorant uzyskane wyniki z dużą swobodą potrafi konfrontować z danymi z piśmiennictwa światowego, nie tracąc przy tym obiektywnego krytycyzmu, co świadczy nie tylko o Jego dojrzałości naukowej, ale także potwierdza dobre przygotowanie do dalszej pracy naukowej. Praca doktorska jako całość napisana jest w dobrym stylu, chociaż Autor nie ustrzegł się licznych błędów literowych, których nie wymieniam, ponieważ nie wpływają na moją pozytywną ocenę merytoryczną. Chciałabym podkreślić, że dysertacja Pana mgr Adamczuka, oprócz istotnych walorów naukowych, wnosi ważne elementy aplikacyjne. Doktorant zidentyfikował i zaproponował kryteria różnicujące fenotyp metaboliczny badanych komórek nowotworowych. Według Doktoranta należy uwzględniać nie tylko intensywność syntezy mleczanu z pirogronianu, ale także pochodzenie mleczanu z innych źródeł niż egzogenna glukoza. Może to - jak sugeruje w dyskusji sam Autor - oznaczać, że potrzebne jest uściślenie teorii Warburga, ponieważ w komórkach nowotworowych może dochodzić nie tylko do aktywowania glikolizy, ale również aktywowania przemiany pirogronianu do mleczanu, co rzeczywiście oznacza, że pirogronian pochodzi z innych źródeł niż egzogenna glukoza. Pracę dokorską kończy rozdział „Wnioski”, w którym Doktorant zaproponował cztery wnioski, z których wynika, że synergizm działania cytotoksycznego 2,4-DNP w połączeniu z promieniowaniem X potwierdzono tylko w przypadku linii komórkowej LNCaP. Również tylko w przypadku tej jednej linii LNCaP stwierdzono synergizm działania cytotoksycznego niektórych leków przeciwnowotworowych z 2,4-DNP. Jest to bardzo interesujące, zważywszy, że badania zostały przeprowadzone na liniach komórkowych wyizolowanych z najczęstszych miejsc przerzutów raka prostaty (PC3 - komórki tej linii wywodzą się z przerzutów do kości; DU145 – linia pochodząca z przerzutów do mózgu oraz LNCaP – linia komórek wyizolowanych z przerzutów do nadobojczykowego węzła chłonnego). Komórki

tych linii różnią się zarówno stopniem inwazyjności, jak i wrażliwością na leczenie, szczególnie hormonalne (PC3, DU-145- linie niewrażliwe na terapię hormonalną, linia LNCaP wrażliwa). Jak zatem należy interpretować wniosek, że linia komórkowa LNCaP wyróżnia się skrajnie niskim stopniem wykorzystania glukozy oraz wysokim potencjałem/zależnością od oksydacyjnej fosforylacji? Nasuwa się więc pytanie, czy uzyskane wyniki Doktorant może odnieść na ostrożne wnioskowanie dotyczące propozycji leczenia pacjentów z przerzutowym rakiem prostaty?

Podsumowując, praca doktorska Pana mgr **Grzegorza Michała Adamczuka pt.: „Ocena wpływu związków zaburzających funkcję mitochondriów na radiowrażliwość oraz cytotoksyczność klasycznych cytostatyków wobec wybranych linii komórek raka prostaty”** stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jak również wnosi istotne aspekty nowości w ramach rozwoju reprezentowanej dyscypliny naukowej. Recenzowana praca w pełni spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim wynikające z art. 16 ust. 2 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.), dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Lublinie wniosek formalny o dopuszczenie mgr Grzegorza Michała Adamczuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Toksykologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

dr hab. n. med. prof. uczelni Anna Kilanowicz-Łopota