



# UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej  
kierownik: prof. dr hab. Andrzej Gamian

Prof. dr hab. Andrzej Gamian  
ul. Chałubińskiego 10, 50-368 Wrocław  
tel. (071)7841370, 7840084, fax: 7840085  
e-mail: [andrzej.gamian@umed.wroc.pl](mailto:andrzej.gamian@umed.wroc.pl); <http://www.am.wroc.pl>

Wrocław, 16.05.2018r.

## Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Dagmary Jaworskiej pt. „Ocena wrażliwości komórek macierzystych CD44(+) CD24(-) raka gruczołu krokowego na TRAIL – indukowaną apoptozę” wykonanej pod kierunkiem dr hab. n. med. Eweliny Szliszki

Praca dotyczy badania nowotworowych komórek macierzystych raka gruczołu krokowego w aspekcie ich oporności na przeciwnowotworowe mechanizmy układu odpornościowego. Ligand TNF indukujący apoptozę (TRAIL) z udziałem swojego receptora (TRAIL-R) aktywuje apoptozę w komórkach nowotworowych. Wrażliwość komórek macierzystych raka gruczołu krokowego na działanie TRAIL nie została jak dotąd zbadana, dlatego ważne jest podjęcie tematu określenia mechanizmów związanych z brakiem wrażliwości tych komórek na apoptozę indukowaną przez TRAIL i wybór tego tematu jest uzasadniony. Wyniki takich badań mogłyby przyczynić się do zrozumienia oporności na leki przeciwnowotworowe z grupy taksanów hamujące depolimeryzację mikrotubul, stosowane w chemioterapii raka prostaty. Praca ma znaczenie poznawcze oraz może znaleźć wykorzystanie praktyczne w poszukiwaniu nowych podejść do terapii raka prostaty. Praca ma dopuszczalny, odmienny układ od klasycznego stylu, jest złożona z dwóch opatrzonych wstępem opublikowanych publikacji, dwu- i trójautorskiej. Dlatego ważne jest opisanie udziału autorki pracy doktorskiej w poszczególnych artykułach, co zostało podane w końcowej części, w postaci procentowego udziału w publikacjach oraz spisu wykonanych doświadczeń i roli w publikacjach kandydatki do stopnia naukowego doktora. Praca składa się z dwóch publikacji stanowiących rozprawę doktorską, poprzedzonych wykazem skrótów, wstępem, określeniem celu pracy, spisem użytych materiałów i metod, podsumowaniem dyskusji, wnioskami, oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim, a na

końcu zawiera oświadczenie o wkładzie własnym w publikacjach. Ocena rozprawy opiera się więc głównie na analizie wkładu autorki w poszczególnych publikacjach opartej na oświadczeniu i osiągniętych wynikach badań doktorantki. We wstępie do rozprawy autorka omawia zwięźle problematykę komórek macierzystych raka prostaty, ich markery, ze zwróceniem uwagi na najbardziej inwazyjny fenotyp CD44(+) CD24(-), będący przedmiotem pracy doktorskiej. Celem pracy było określenie występowania komórek o takim fenotypie w populacji komórek raka gruczołu krokowego dwóch linii, mianowicie DU145 i PC3 i określenie ich wrażliwości na dwuskładnikowy system TRAIL i cytostatyk (poklitaksel, kabazytaksel i docetaksel). Należało także ocenić stopień apoptozy indukowanej w wyniku takiego działania oraz ekspresję receptorów dla TRAIL. Zadanie realizowano stosując bogaty zestaw metod, odczynniki, zestawy testowe, cytostatyki i rekombinowane białko TRAIL oraz komórki raka i pożywki są pochodzenia komercyjnego. Autorka oceniała apoptozę metodą cytometrii przepływową, stosując odpowiednie zestawy odczynników. Cytotoksyczność oznaczano przez pomiar aktywności LDH. Cytometrię przepływową stosowano także do oceny liczebności komórek o danym fenotypie, a także do oceny ekspresji odpowiedniego receptora dla TRAIL. Wyniki poddano w sposób wystarczający analizie statystycznej. W pierwszej pracy (Int. J. Mol. Sci, 2015, 16, 27433-27449), gdzie doktoranka jest pierwszą z trzech autorów, omówiono komórki macierzyste raka prostaty, będące niewielką subpopulacją niezróżnicowanych komórek nowotworowych, funkcjonujących wśród innych komórek, jednak o dużym potencjale uniezależniania się od siedliska i zasiedlania odległych środowisk. Omówiono także znane markery tych komórek, a następnie dokonano krytycznego przeglądu poszczególnych podejść terapeutycznych, gdzie stwierdzono brak wyraźnego postępu i poprawy wyników leczenia. Praca ta (IF = 3,257) została wykonana w znaczącej (80%) części przez doktorantkę, co oznacza znakomite przygotowanie do realizacji części eksperymentalnej, opanowanie dużego zakresu wiedzy z tematyki objętej pracą doktorską, podsumowanie zastanego stanu wiedzy celem trafnego wyboru zadań. W drugiej pracy (Int. J. Mol. Sci, 2017, 18, 1-21), doktoranka jest pierwszą z dwóch autorów, co dobrze wyraża jej rozwój naukowy, a jej udział wynoszący aż 90% wkładu pracy, chociaż będący typową relacją udziału doktoranta i promotora, wskazuje tutaj na dużą samodzielność i inwencję w pracy naukowej doktorantki. W pracy wykazano, że w populacji linii komórek raka gruczołu krokowego występowały komórki macierzyste raka o fenotypie CD44(+) CD24(-). Wykazywały one podwyższoną oporność na apoptozę indukowaną przez TRAIL, oraz były mniej wrażliwe na chemioterapeutyki z grupy taksanów niż pozostałe komórki badanych linii. Połączenie ligandu TRAIL z jednym z badanych cytostatyków

znamiennie nasilało apoptozę zależną od TRAIL w komórkach macierzystych raka gruczołu krokowego linii PC3. Wykazano także obniżoną ekspresję receptorów TRAIL-R1 i TRAIL-R2, co wskazuje na przyczynę oporności komórek macierzystych raka na apoptozę zależną od TRAIL. Badane cytostatyki podwyższały ekspresję receptora TRAIL-R2 na powierzchni komórek macierzystych raka gruczołu krokowego linii PC3. Wykazano w ten sposób, że można uwrażliwić na apoptozę indukowaną przez TRAIL poprzez skojarzone działanie TRAIL z cytostatykami. Paklitaksel, kabazytaksel i docetaksel nasila TRAIL-zależną apoptozę w komórkach macierzystych prostaty. Interesującą była obserwacja, że po zastosowaniu cytostatyków ilość CSC wzrosła w obu liniach, a dopiero połączenie TRAIL z cytostatykiem uwrażliwia CSC na TRAIL indukowaną apoptozę. Powstaje tutaj pytanie do doktorantki odnośnie zależności obserwowanych efektów od dawki cytostatyków, czyli jaką rolę w obserwowanych aktywnościach mogą pełnić relacje ilościowe cytostatyków i TRAIL, skoro sam cytostatyk może podwyższać ilość komórek macierzystych. Nie mam uwag krytycznych do pracy, błędy literowe są nieliczne, tytuł jest zgodny z treścią pracy.

Podsumowując chcę podkreślić, że praca jest wartościowa, badania zostały prawidłowo zaplanowane i zrealizowane, praca wnosi oryginalny wkład do wiedzy o czynnikach i mechanizmach oporności nowotworu na cytostatyki, skutecznym leczeniu raka gruczołu krokowego, wychodzi naprzeciw poszukiwaniom nowych form terapii prowadzących do eradykacji komórek macierzystych raka gruczołu krokowego, wnosi cenne informacje do metod leczenia. Autorka wykazała się znajomością właściwie wykorzystanego piśmiennictwa, na uwagę zasługuje opublikowanie wyników w dobrym czasopiśmie, bardzo dobre opanowanie metod badań komórkowych, immunochemicznych i immunologicznych, udział w redagowaniu prac i w pracach redakcyjnych.

Uważam, że rozprawa doktorska mgr Dagmary Jaworskiej zawiera oryginalny materiał doświadczalny i spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Dlatego wnioskuję do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrzu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o przyjęcie tej pracy doktorskiej i dopuszczenie mgr Dagmary Jaworskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Pozwalam sobie również złożyć Wysokiej Radzie wniosek o wyróżnienie tej pracy ze względu na dużą wartość merytoryczną i bardzo dobre wykonanie części doświadczalnej oraz napisanie całej rozprawy.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
KATEDRA I ZAKŁAD  
BIOCHEMII LEKARSKIEJ  
kierownik  
prof. dr hab. Andrzej Gamian