

Prof. dr hab. Martyna Kandefer-Szerszeń
Zakład Wirusologii i Immunologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

Lublin. 20.11.2014

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr Michała Kiełbika pt. "Ocena bezpośredniego działania donorów tlenu azotu na wybrane cechy nowotworowe komórek linii raka jajnika" wykonanej w Instytucie Biologii Medycznej PAN pod kierunkiem dr hab. Magdaleny Klink, profesora IBM PAN w Łodzi

Z dużą przyjemnością przeczytałam obszerną, bo liczącą 185 stron, pozbawionego błędów literowych druku komputerowego, rozprawę doktorską Pana mgr Michała Kiełbika, wyjątkowo starannie opracowaną ze strony merytorycznej i formalnej. Rozprawa dotyczy poszukiwania alternatywnych metod leczenia raka jajnika, nowotworu o bardzo złym rokowaniu, zabójcy wielu kobiet na świecie. Do doświadczeń wybrano organiczne donory tlenu azotu i przebadano ich wpływ na niektóre cechy komórek nowotworowych, będące markerami ich inwazyjności oraz zbadano współdziałanie donorów z cisplatyną, stosowaną jako cytostatyk w tym typie nowotworu. Temat pracy jest aktualny i ciekawy nie tylko pod względem poznawczym ale i praktycznym, gdyż mało jest danych w piśmiennictwie dotyczących tego sposobu wspomagania podstawowej terapii onkologicznej.

Tlenek azotu, jak wynika z piśmiennictwa, odgrywa dwojaką rolę w przeżywaniu i inwazyjności komórek nowotworowych. Zależy to od miejscowego stężenia tej molekuly, czasu jej działania i etapu rozwoju komórek

nowotworowych. Wysokie stężenia NO są zabójcze dla komórek nie tylko nowotworowych, ale i prawidłowych, ale na ogół te pierwsze są bardziej wrażliwe na jego cytobójcze działanie. Same komórki nowotworowe są producentami NO, ale jego stężenia uwalniane przez nowotwór wspomagają jego rozwój i inwazyjność. Dostarczenie, zwłaszcza miejscowe, donorów NO i wysokie stężenie tej cząsteczki są, jak wykazano w tej pracy, zabójcze dla komórek raka jajnika, choć zależy to od etapu jego rozwoju. Linia komórek o wysokiej inwazyjności okazała się bardziej oporna na działanie wysokich stężeń NO. Należy podkreślić trafny dobór do doświadczeń dwóch linii komórek raka jajnika o różnych właściwościach biologicznych (genotypowe i fenotypowe) oraz prawidłowych płodowych komórek nerki, jako kontroli, choć z pewnością byłyby lepsze komórki nabłonkowe jajnika, np. z usuniętych chirurgicznie cyst tego narządu. Porównawcze zastosowanie dwóch donorów NO o różnym okresie półtrwania także pozwoliło na wysnucie bardziej ogólnych wniosków z wyników tej pracy.

Bardzo pozytywna ocena strony merytorycznej rozprawy doktorskiej idzie w parze z bardzo pozytywną oceną strony formalnej. Praca podzielona jest na podrozdziały zgodne z ogólnie przyjętymi zasadami dla doświadczalnych prac doktorskich, a więc wstęp, materiały i metody, omówienie wyników, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo oraz streszczenie w języku polskim i angielskim.

Wstęp pracy jest bardzo obszernym opracowaniem omawiającym wszystkie aspekty poruszane w części metodycznej. Na uwagę zasługuje fakt, że nie jest to bierny przegląd literatury, ale opracowanie z bardzo starannym i dogłębnym przemyśleniem opisywanych mechanizmów. Świadczy to o bardzo dobrej znajomości problemu przez doktoranta, jego rzetelności w rozpracowaniu tematyki rozprawy doktorskiej. Jedynym mankamentem, który zauważyłam jest brak cytowania pozycji piśmiennictwa w podpisach pod schematami i rysunkami, a dotyczy to ochrony wartości intelektualnej autorów schematów i rysunków. Sam wstęp może być opracowaniem publikowanym jako praca

przeładowa. W tym miejscu pragnę pogratulować doktorantowi obszernego dorobku naukowego w formie wielu pozycji, jako doniesienia zjazdowe na zjazdach krajowych i zagranicznych (22 pozycje), ale bardzo dużego, jak na krótki okres pracy naukowej, dorobku publikacyjnego w czasopismach impaktowanych (8 pozycji), co stanowi dla doktoranta mocne postawy startowe dla szybkiego i cennego dorobku naukowego w trakcie dalszej pracy naukowej. Naprawdę bardzo rzadko zdarza się tak wybitny dorobek naukowy młodego naukowca już na początku jego kariery. Oczywiście nie byłoby to możliwe bez troskliwej i wartościowej merytorycznej opieki ze strony promotora oraz innych pracowników zespołu. Świadczy to o doskonałej organizacji pracy naukowej, oraz przepływie informacji w zespole. Nie bez znaczenia jest fakt doskonałego wyposażenia aparaturowego, bez którego realizacja pracy byłaby niemożliwa.

Część metodyczna jest również bardzo dobrze opracowana. Opis materiałów oraz metod zajmuje wiele stron i może posłużyć magistrantom i doktorantom za podręcznik metodyczny w realizacji pracy o podobnym charakterze. Świadczy też o obszernej znajomości metodyki i umiejętnościach manualnych doktoranta. W części tej widać zaangażowanie doktoranta w pracę eksperymentalną i zacięcie naukowe w jej realizacji.

Omówienie wyników przeczytałam także z przyjemnością. Opis jest systematyczny, dobrze ilustrowany, rysunki są prawidłowo podpisane, umożliwiając tym samym śledzenie wyników pracy. Omówienie nie jest przeładowane szczegółami i świadczy o krytycznym podejściu doktoranta do interpretacji wyników. Część wyników pracy już jest opublikowana, a więc pozytywna ich ocena jest nie tylko moim udziałem. Z najważniejszych wyników w mojej ocenie należy wymienić obserwację różnej wrażliwości komórek nowotworowych o różnym stopniu inwazyjności na donory NO. Podkreśla to rolę wczesnej diagnozy nowotworu oraz fakt, że w komórkach nowotworowych zachodzą zmiany prowadzące do oporności na niemal wszystkie rodzaje substancji cytostatycznych. Autor pracy badał też mechanizmy zaobserwowanej

cytotoksyczności donorów NO i stwierdził, że główny mechanizm to indukcja apoptozy związana z zaburzeniami szlaków sygnałowania komórkowego STAT3 i AKT. Zaburzenia tych szlaków skutkują zaburzeniem produkcji substancji proangiogennych w tym VEGF oraz metaloproteinaz. Dla mnie najciekawszym był fakt, że obydwie stosowane donory NO były inhibitorami proteasomu. Jest to ważne odkrycie, bo obok bortezomibu brak jest innych inhibitorów stosowanych praktycznie. Zdaję sobie też sprawę z wad donorów NO, które są aktywne dopiero w dużych dawkach, nieosiągalnych farmakologicznie po podaniu domięśniowym lub dożylnym, przy prawdopodobnie ogromnych działaniach ubocznych. Tym niemniej możliwe jest uzyskanie takiego ich stężenia przy lokalnej aplikacji.

Dyskusja napisana jest bardzo dobrze. Wszystkie wyniki pracy są dogłębnie przedyskutowane w świetle najnowszego piśmiennictwa. Jest ona bardzo obszerna, ale napisana tak, że czyta się ją z przyjemnością; poprawnym i pozbawionym slangu naukowego językiem. Wnioski Doktorant sformułował bardzo ostrożnie. Pierwsza ich część jest podsumowaniem wyników badań, lecz na końcu jest pojedynczy poprawnie sformułowany wniosek, może zbyt ostrożny przy dużym znaczeniu uzyskanych wyników badań.

Bibliografia liczy 415 pozycji i cytuje prace najważniejsze dla rozwoju danej dziedziny wiedzy oraz prace najnowsze z ostatnich lat. Tak duża bibliografia jest wynikiem podkreślanej już przeze mnie obszerności wstępu i dociekliwości dyskusji.

Podsumowując całokształt rozprawy doktorskiej mgr Michała Kiełbika stwierdzam, że reprezentuje ona bardzo dobry poziom naukowy. Autor wykazał się dogłębną znajomością problematyki i samodzielnością myślenia oraz opanowaniem bardzo wielu technik badawczych. Część pracy jest już opublikowana. Poza tym Doktorant posiada jak na młody wiek wybitny dorobek naukowy. Wyniki pracy są cenne pod względem poznawczym i praktycznym. Praca jest bardzo dobrze i starannie opracowana. Wyróżnia się spośród innych

prac zakresem badań, dogłębnym rozpracowaniem i przemyśleniem przedmiotu pracy. Na tej podstawie uznaję, że rozprawa doktorska mgr Michała Kielbika odpowiada w pełni wymogom ustawowym stawianym rozprawom na stopień doktorski i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Biologii Medycznego PAN w Łodzi o jej dopuszczenie do publicznej obrony. Jednocześnie wnioskuję o jej nagrodzenie stosowną nagrodą.

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized, cursive letters, likely representing the name of the author or reviewer.