

Łódź, 11 czerwca 2024

Prof. dr hab. Jarosław Dziadek
Kierownik Pracowni Genetyki i Fizjologii Mycobacterium
Instytut Biologii Medycznej PAN

**Ocena pracy doktorskiej mgr inż. Małgorzaty Chmielewskiej-Kassassir pt.
„Analiza właściwości przeciwnowotworowych polifenolowego ekstraktu z
wytłoków z wiesiołka dziwnego (*Oenothera paradoxa*) w komórkach
złośliwego międzybłoniaka opłucnej”.**

Skuteczna terapia chorób nowotworowych jest jednym z największych wyzwań współczesnej medycyny. Chemioterapia często stosowana jest w połączeniu z innymi metodami leczenia nowotworów, takimi jak chirurgia, radioterapia lub terapia hipertermiczna. Wśród leków stosowanych w chemioterapii znajdują się związki alkilujące (np. mitomycyna, cisplatyna), antymetabolity utrudniające syntezę DNA lub RNA, (np. poprzez inaktywację reduktazy dihydrofolianu, hamowanie syntezy puryn i pirymidyn, czy poprzez analogi zasad), związki działające na podziały komórkowe poprzez hamowanie funkcji mikrotubul, inhibitory topoizomeraz niezbędnych w procesie replikacji DNA, oraz antybiotyki cytotoksyczne. Dobór właściwych leków w terapii zależy od typu i stopnia zaawansowania nowotworu. Wśród leków przeciwnowotworowych znajdziemy także związki pochodzenia roślinnego jak choćby inhibitory hamujące tworzenie mikrotubul lub blokujące ich rozpad a tym samym zaburzające proces podziałów komórkowych i indukujące apoptozę. Niewątpliwie wśród związków pochodzenia roślinnego możemy znaleźć jeszcze wiele substancji, które wykazują działanie przeciwnowotworowe lub też mają potencjał do wspomagania terapii przeciwnowotworowej prowadzonej z użyciem innych leków. Właśnie takimi związkami, a dokładnie ekstraktami z wiesiołka dziwnego w aspekcie złośliwego międzybłoniaka opłucnej, postanowiła zająć się Doktorantka w swojej pracy. Biorąc pod uwagę znaczenie kliniczne oraz potencjał związków



pochodzenia roślinnego w terapii nowotworów, temat pracy doktorskiej Pani Małgorzaty Chmielewskiej-Kassassir uważam za bardzo aktualny oraz cenny zarówno z punktu widzenia badań poznawczych jak i aplikacyjnych. Praca została zrealizowana pod kierunkiem Pani Promotor prof. dr hab. Lucyny Woźniak oraz Promotor pomocniczej dr Małgorzaty Bukowieckiej-Matusiak w Zakładzie Biologii Strukturalnej na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, co zapewniło Doktorantce dostęp do niezbędnych materiałów oraz technik badawczych.

Dysertacja została przygotowana na podstawie jednej pracy pogładowej oraz dwóch współautorskich prac eksperymentalnych, w których Doktorantka pełniła wiodącą rolę, opublikowanych w czasopiśmie naukowym z listy Filadelfijskiej o znaczącym współczynniku wpływu. Udział Doktorantki w przygotowaniu opublikowanych prac został szczegółowo opisany oraz potwierdzony poprzez oświadczenia współautorów.

Załączone publikacje zostały poprzedzone poprzez streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp teoretyczny, hipotezę badawczą, omówienie każdej z prac wchodzących w skład dysertacji oraz podsumowanie. Szczególnie ważnym elementem tej części dysertacji wydaje się przedstawiona hipoteza badawcza i cel pracy oraz podsumowanie, gdyż pozostałe elementy zostały zawarte w publikacjach, stanowiących integralną część doktoratu.

We wstępie pracy, Doktorantka zapoznaje czytelnika z etiologią oraz klinicznymi aspektami złośliwego międzybłoniaka opłucnej, przedstawia podłoże molekularne jego onkogenezy, oraz omawia pokrótce związki polifenolowe i ekstrakty roślinne w terapii ZMO. Świetnym uzupełnieniem wstępu jest praca pogładowa stanowiąca integralną część dysertacji, opublikowana w *International Journal of Molecular Sciences* (2021), w której autorzy omawiają nowe celowane terapie skierowane przeciwko komórkom złośliwego międzybłoniaka opłucnej, oraz opisują polifenole i inne naturalne związki mające potencjalne zastosowanie w terapiach przeciwnowotworowych, w tym terapii ZMO. Wszystkie zagadnienia omówione w pracy pogładowej są bardzo dobrze dobrane i stanowią świetne wprowadzenie do zawartych w dysertacji prac eksperymentalnych, a zawarte w pracy pogładowej Tabele i schematy pozwalają czytelnikowi na szczegółowe zapoznanie się z omawianymi procesami. Wydaje się, że praca ta jako stanowiąca wstęp teoretyczny do omawianych przez Doktorantkę zagadnień mogłaby być pierwszą a nie drugą pracą cyklu w dysertacji.



Główną część dysertacji stanowią dwie prace eksperymentalne, a w pierwszej z nich opublikowanej w *Biomolecules* w 2020 roku, Doktorantka badała właściwości przeciwnowotworowe ekstraktu z odtłuszczonych nasion wiesiołka dziwnego w modelu komórkowym rzadkiego, agresywnego nowotworu opłucnej. W tym miejscu chciałbym zapytać Doktorantkę **czy skład ilościowy i jakościowy polifenoli znajdujących się w badanym ekstrakcie był identyczny we wszystkich przeprowadzonych eksperymentach? Czy ekstrakt pochodził z pojedynczej preparatyki oraz czy udaje się zachować powtarzalność co do składu ekstraktu przy kolejnych ekstrakcjach?** Autorzy potwierdzili skuteczność badanego ekstraktu w hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych ZMO o podtypie inwazyjnym oraz w indukcji apoptozy. Zaobserwowali także zahamowanie ruchliwości i potencjału inwazyjnego komórek tego nowotworu. Ciekawy jestem czy porównując wyniki swoich badań z wcześniejszymi doniesieniami pokazującymi działanie ekstraktu z wiesiołka dziwnego na inne nowotwory takie jak prostaty, piersi, czerniaka skóry, czy jelita grubego Doktorantka obserwuje uniwersalność mechanizmu działania czy też pewną specyfikę zależną od rodzaju komórek nowotworowych. **Bardzo proszę o komentarz Doktorantki na ten temat podczas publicznej obrony. Ciekawy jestem także czy Doktorantka byłaby w stanie zaproponować molekularny mechanizm prowadzący do obserwowanego 3-krotnego spadku zewnątrzkomórkowej metaloproteiny MMP-7 w komórkach inwazyjnych ZMO poddanych działaniu badanego ekstraktu.**

W drugiej z prac eksperymentalnych opublikowanej w 2023 roku w *Cancers* Doktorantka zamieściła bardzo interesujące wyniki badań zmierzających do poznania molekularnego mechanizmu związanego z regulacją syntazy tymidylanowej (TYMS) w badanych komórkach nowotworowych poddanych działaniu ekstraktu. Doktorantka wykazała zależność pomiędzy poziomem TYMS a markerami przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej w inwazyjnych podtypach ZMO oraz wyjaśniła mechanizmy przeciwinwazyjnego działania ekstraktu poprzez obniżenie poziomu ekspresji białka TYMS. W bardzo dobrze zaplanowanych eksperymentach Autorzy wykazali także zaangażowanie czynnika SP1 w regulację ekspresji TYMS w odpowiedzi na działanie ekstraktu i jego składników wobec mieszanego i mięsakowatego podtypu komórek ZMO. Za szczególnie interesującą obserwację Doktorantki uważam wykazanie hamowania translokacji czynnika transkrypcyjnego SP1 do jąder komórkowych w wyniku działania ekstraktu. Doktorantka stwierdziła także słabszy efekt działania



poszczególnych składników ekstraktu w obniżaniu poziomu TYMS w porównaniu z pełnym ekstraktem, co może sugerować synergistyczny efekt działania poszczególnych składników. Ciekawy jestem czy Doktorantka próbowała zastosować w tych badaniach mieszaninę kilku wybranych składników ekstraktu w celu identyfikacji tych, które są niezbędne dla uzyskania efektu pełnego ekstraktu? Biorąc pod uwagę bardzo interesujące wyniki uzyskane przez Doktorantkę w kontekście potencjalnej roli ekstraktu z wiesiolka dziwnego w terapii złośliwego międzybłoniaka opłucnej, oraz przez zespół w badaniach innych nowotworów, ciekawy jestem czy przeprowadzono, lub zaplanowano badania na modelu zwierzęcym, które pozwoliłyby na zweryfikowania poczynionych dotychczas obserwacji dotyczących badanych polifenoli. Czy w kontekście ZMO istnieje model zwierzęcy, który można wykorzystać do weryfikacji potencjalnego znaczenia terapeutycznego badanych ekstraktów?

Wracając do przedstawionego przez Doktorantkę omówienia publikacji chciałbym dodać, że cel pracy został jasno sformułowany i uzupełniony hipotezą badawczą. Doktorantka wyciąga w pełni uprawnione wnioski, które mają podstawę w wykonanych eksperymentach. Każda z publikacji zawiera bardzo ciekawą, dobrze poprowadzoną dyskusję odnoszącą w sposób krytyczny uzyskane wyniki do obserwacji innych autorów.

Po wnikliwym zapoznaniu się z pracą dokorską Pani mgr inż. Małgorzaty Chmielewskiej-Kassassir uważam, że Doktorantka prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną niezbędną dla osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki medyczne, wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej a przedstawiona do oceny dysertacja stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia kryteria zawarte w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Wnoszę do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Pani mgr inż. Małgorzaty Chmielewskiej-Kassassir do dalszych etapów postępowania.

Ze względu na podjęte ryzyko naukowe, aspekty poznawcze i aplikacyjne pracy, wnoszę do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o nagrodzenie pracy Pani mgr inż. Małgorzaty Chmielewskiej-Kassassir przewidzianą w regulaminie nagrodą.

DYREKTOR
Instytutu Biologii Medycznej
Polskiej Akademii Nauk

Prof. dr hab. Jarosław Dziadek
(2)