



## Recenzja rozprawy doktorskiej

Mgr Natalia Patrycja Jamrozik

„Analiza białek szlaku COX-2/PGE<sub>2</sub> w raku jelita grubego”

Promotor: Prof. dr hab. Małgorzata Krzystek-Korpacka

Rak jelita grubego (RJG) jest drugim co do częstości występowania nowotworem w Europie po raku piersi. Zajmuje też drugie miejsce, po raku płuc, jako przyczyna śmierci z powodu nowotworu. Trend wzrostowy zachorowalności i śmiertelności koreluje z coraz bardziej powszechną otyłością, wzrostem spożycie czerwonego i przetworzonego mięsa, wzrostem spożycia alkoholu, paleniem tytoniu. Udowodniono, że kluczową rolę w transformacji nowotworowej i późniejszej promocji wzrostu guza pełni stan zapalny. Komórki układu odpornościowego, kierowane gradientem chemokin migrują do miejsc zapalnych stając się źródłem reaktywnych form tlenu i azotu, które uszkadzają kwasy nukleinowe i białka enzymatyczne odpowiedzialne za naprawę uszkodzeń oraz wydzielają mediatory umożliwiające podtrzymanie i propagację stanu zapalnego. Mediatory zapalne i czynniki wzrostowe modulują odpowiedź immunologiczną gospodarza tworząc środowisko sprzyjające rozwojowi komórek transformowanych i umożliwiające ucieczkę spod nadzoru immunologicznego. Wykrywanie RJG na wczesnym etapie stało się możliwe dzięki coraz powszechniej stosowanej kolonoskopii. Jest to jednak badanie inwazyjne, ograniczone wymogami technicznymi oraz umiejętnościami lekarza w analizie często niejednoznacznych zmian. Wciąż więc poszukiwane są mniej inwazyjne i lepiej tolerowane przez pacjentów sposoby na wczesne wykrywanie RJG. Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska wpisuje się w trend poszukiwania markerów biochemicznych przydatnych w profilaktyce i wczesnym wykrywaniu RJG.

Katedra i Zakład Biochemii

Wydział Nauk Medycznych w  
Zabrze41-808 Zabrze ul. Jordana 19  
www.sum.edu.pldr hab. n. med. Ewa Romuk,  
prof. SUM tel.: (608444688)  
eromuk@sum.edu.pl

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 272 23 18  
fax: (+48 32) 272 23 18

biochemz@sum.edu.pl

## Charakterystyka ogólna pracy

Rozprawa liczy 131 stron i ma typowy układ. Składa się z następujących rozdziałów: wstępu, celów pracy, materiałów i metodyki badań, wyników, dyskusji, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim, wykazu tabel, wykresów, rysunków i zdjęć, piśmiennictwa. Praca jest przejrzysta, na co wpływają bardzo czytelne wykresy i rysunki, które ułatwiają całościową analizę pracy.

## Wstęp

Doktorantka wnikliwie i szczegółowo wprowadza czytelnika w podjęty temat badawczy. Przybliży mechanizmy leżące u podstaw rozwoju raka jelita grubego. Zwraca uwagę na podłoże genetyczne rozwoju RJG, podkreślając jednak, że w 70% rozwój RJG ma charakter sporadyczny i nie jest uwarunkowany genetycznie. Podkreśla konieczność wczesnej diagnostyki i profilaktyki gdyż aż w 90 % RJG rozwija się na bazie istniejących zmian łagodnych, takich jak gruczolaki i zmiany ząbkowane. Doktorantka podkreśla, że progresja zmian przednowotworowych do raka inwazyjnego może trwać od 5 do 15 lat, co daje nam czas na zapobieganie rozwojowi RJG. Towarzyszący rozwojowi RJG stan zapalny jest według Doktorantki punktem uchwytu, który daje nowe możliwości diagnostyczne, a zmienione mikrośrodowisko wymaga dokładnych badań celem wyodrębnienia markerów stanu zapalnego o wysokiej czułości i swoistości względem RJG.

W kolejnym podrozdziale Doktorantka bardzo dokładnie charakteryzuje szlak COX2/PGE<sub>2</sub>, podkreślając jego szczególną rolę w RJG, udział we wszystkich etapach kancerogenezy w jelicie i ścisły związek ze stanem zapalnym, zaburzeniem równowagi redoks i rozwojem stresu oksydacyjnego. Doktorantka podkreśla rolę receptorów PGE<sub>2</sub> pośredniczących w różnych aktywnościach promujących rozwój raka. Przedstawiony szlak COX2/PGE<sub>2</sub> ma nam zobrazować mechanizmy działania aspiryny i jej pochodnych, leków stosowanych u chorych z RJG. Jednak silne efekty uboczne ich stosowania skłoniły Doktorantkę do poszukiwania leków bezpieczniejszych, NA-NLPZ, o zmniejszonej toksyczności.

## Cel pracy

W mojej opinii cele pracy zostały prawidłowo postawione i sprecyzowane. Wynikają one z problemów przedstawionych przez Doktorantkę we Wstępie, a więc niewystarczającymi



narzędziami diagnostycznymi i niezadawalającymi efektami stosowanych leków, którymi dysponujemy u chorych z RJG. Celem Doktorantki była dogłębna analiza transkryptomyczna, proteomiczna i metabolomiczna szlaku COX2/PGE<sub>2</sub>, poszukiwanie na tej podstawie ewentualnych potencjalnych biomarkerów oraz analiza możliwości zastosowania w RJG leków z grupy klasycznych i nowo syntetyzowanych oksykamów

## Material i Metody

Projekt badawczy realizowany przez Doktorantkę uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej KB/nr 1/2012 przy Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu. Doktorantka dokładnie opisuje wykorzystany w pracy materiał kliniczny, pozyskiwanie cDNA, surowicy oraz wykorzystane linie komórkowe, charakteryzuje wykorzystane w pracy oksykamy. Złożoność i wieloetapowość pracy wymagała wielu różnorodnych technik i odczynników w celu przeprowadzenia badań transkryptomicznych, proteomicznych i metabolomicznych. Doktorantka dokładnie i wyczerpująco opisuje całe zaplecze techniczne i metodologię przeprowadzonego eksperymentu.

## Wyniki

Wyniki Doktorantka przedstawiła w 26 tabelach, na 44 wykresach i 15 zdjęciach. Analizy wyników dokonała przy użyciu MedCalc Statistical Software.

Doktorantka zaobserwowała deregulację szlaku COX2/PGE<sub>2</sub> na poziomie lokalnym i ogólnoustrojowym. Na poziomie lokalnym deregulacja szlaku COX2/PGE<sub>2</sub> polegała na znamiennej redukcji ekspresji HPGD, MRP4, PGT, PTGER2 i PTGER4 w guzie nowotworowym względem makroskopowo i histologicznie prawidłowej tkanki otaczającej.

Na poziomie ogólnoustrojowym deregulacja szlaku manifestowała się wyższymi niż u osób zdrowych stężeniami PGE<sub>1</sub>, PGF<sub>1α</sub>, PGF<sub>2</sub> i TBX<sub>2</sub> a niższymi stężeniami LTB<sub>4</sub>. Ogólnoustrojowe stężenie PGE<sub>1</sub>, PGJ<sub>2</sub> i LTB<sub>4</sub> oraz PGF<sub>2</sub> było odzwierciedleniem dobrostanu pacjenta w klasyfikacji ASA. Obecność przerzutów w węzłach chłonnych wiązała się z wyższymi stężeniami PGF<sub>2</sub>, wysoki stopień ich zajęcia wiązał się z niższym stężeniem ogólnoustrojowym PGF<sub>1</sub> oraz LBT<sub>4</sub>. Obecnością przerzutów odległych korelowała z wyższym stężeniem PGJ<sub>2</sub> i niższym PGF<sub>1α</sub> oraz LTB<sub>4</sub>. Rosnące zezłośliwienie histologiczne korelowało ze wzrostem stężenia PGJ<sub>2</sub> a spadek PGF<sub>1α</sub>, LBT<sub>4</sub> i PGD

Badany przez Doktorantkę  $\text{PGF}_2$  okazał się doskonałym markerem RJG, ale umiarkowanym markerem obecności przerzutów w węzłach chłonnych. Pozostałe eikozanoidy wykazywały wysoką moc diagnostyczną w różnicowaniu pacjentów z RJG i osób zdrowych, lecz umiarkowaną zależnie od stopnia zaawansowania histologicznego.

Badane przez Doktorantkę oksykamy wykazały modulujący wpływ na szlak  $\text{COX2/PGE}_2$  na poziomie transkryptomu i proteomu. Wpływ nowo zsyntetyzowanych pochodnych oksykamów okazał się silniejszy i bardziej powtarzalny niż stosowanych obecnie, piroksykanu i meloksykanu. Najbardziej obiecującą pochodną oksykamów okazał się związek charakteryzujący się obecnością propylenowego linkera łączącego arylopiperyzynowy farmakofor z azotem pierścienia tiazynowego oraz pojedynczym podstawnikiem fluorowym umiejscowionym w reszcie arylopiiperazynowej.

## Dyskusja i wnioski

Zainteresowanie Doktorantki szlakiem  $\text{COX2/PGE}_2$  zostało wzbudzone niedawnymi odkryciami dotyczącymi jego właściwości immunomodulujących i kształtujących immunosupresyjne mikrośrodowisko w otoczeniu guza oraz indukowaniu przez  $\text{PGE}_2$  nowotworowych komórek macierzystych. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są bardzo cennym, kolejnym krokiem na drodze zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw nowotworzenia. Złożone procesy immunologiczne, oksydacyjne i molekularne sprawiają, że jeszcze długa droga przed nami w celu ich zrozumieniu. Jednak nowoczesne techniki badawcze, jak te zastosowane przez Doktorantkę są kolejnym światłem w tunelu.

W dyskusji Doktorantka odnosi uzyskane w pracy wyniki własne do prac innych badaczy. Omawia analizowane w pracy zagadnienia wykazując się dużą znajomością tematu. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki mają duży potencjał kliniczny. Doktorantce udało się wskazać potencjalne markery, min.  $\text{PGF}_2$ , którym należy się przyjrzeć bliżej pod kątem ich wykorzystania w diagnostyce i profilaktyce RJG. Wykazała zmniejszoną toksyczność nowych pochodnych oksykamów i zasadność kontynuacji badań w tym kierunku.

Wnioski zostały sformułowane prawidłowo i odpowiadają celom pracy.

## Piśmiennictwo

Piśmiennictwo obejmuje 95 pozycji, dobranych prawidłowo, obejmujących aktualne pozycje w poruszonym przez Doktorantkę temacie. 54% pozycji literaturowych pochodzi z



ostatnich pięciu lat. Rozprawę zamykają streszczenia w języku polskim oraz angielskim, przedstawiające skrótowo założenia pracy oraz uzyskane wyniki.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny dysertacja zawiera oryginalną i nowatorską koncepcję naukowo-badawczą. Ponadto świadczy o bardzo dobrym warsztacie Doktorantki, umiejętności wyciągania kluczowych wniosków na podstawie uzyskanych wyników.

Przedstawiona praca w pełni odpowiada kryteriom stawianym przed kandydatami do stopnia doktora, spełnia warunki określone w Art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668)

W związku z tym mam zaszczyt zwrócić się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Natalii Patrycji Jamrozik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na nowatorstwo uzyskanych wyników oraz złożoność i olbrzymi wkład pracy Doktorantki zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z wnioskiem o wyróżnienie przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

Z wyrazami szacunku

**PROFESOR SUM BADAWCZO-DYDAKTYCZNY**  
Katedry i Zakładu Biochemii  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

  
dr hab. n. med. Ewa Romuk, prof. SUM

PROFESOR SUM BADAWCZO-DYDAKTYCZNY  
Katedry i Zakładu Biochemii  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

dr hab. n. med. Ewa Romiuk, prof. SUM