

Kraków, dnia 20.02.2020

Recenzja pracy doktorskiej lek. med. Siddartha Agrawala pt „Insulina, chemioterapeutyki i pochodne glukozy w terapii nowotworów litych.

Do recenzji otrzymano rozprawę doktorską w formie zbioru trzech opublikowanych oryginalnych doniesień naukowych dotyczących wpływu insuliny na efekt działania chemioterapeutyków stosowanych w ramach systemowego leczenia raka sutka i raka jelita grubego, t. j. odpowiednio: 5 fluorouracylu (5-FU), oksaliplatyny (OXA), irynotekanu (IRI), cyklofosfamidu (CPA) i docetakselu (DOC).

Przeprowadzone badania miały charakter doświadczalny. Zostały przeprowadzone na liniach komórkowych, standardowo i powszechnie wykorzystywanych do badań dotyczących raka sutka (linia MCF-7) oraz Caco-2 i SW480 (linie komórkowe wyprowadzone z raka jelita grubego) oraz na modelu zwierzęcym (myszy Balb/c).

Efekty działania wspomnianych chemioterapeutyków w połączeniu z insuliną na komórki raka zostały ocenione w sposób kompleksowy; Doktorant przebadął równocześnie proliferację, zdolność do migracji i przeżywalność komórek rakowych, frakcję komórek podlegających apoptozie (w oparciu o analizę białek apoptotycznych - kaspazy-3. i białka BAX), aktywację szlaków apoptotycznych i autofagocytarnych, ekspresję transporterów glukozy (GLUT1, GLUT3), tworzenie reaktywnych form tlenu oraz ekspresję mRNA genów zaangażowanych w szlaki komórkowe aktywowane przez insulinę. Badania te wymagały zastosowania różnorodnych technik laboratoryjnych; od badań immunocyto- i immunohistochemicznych poprzez badania w cytometrze przepływowym po wybrane techniki z zakresu biologii molekularnej (techniki *Western blot*,) a także prowadzenia hodowli komórkowych. Większość wspomnianych badań Doktorant wykonał samodzielnie i w sposób przejrzysty udokumentował ich wyniki. Uzyskane wyniki zostały poddane szczegółowej analizie statystycznej.

Efektom przeprowadzonych doświadczeń jest wykazanie, że komórki nowotworowe linii raka sutka i raka jelita grubego „potraktowane” uprzednio insuliną są bardziej podatne na działania chemioterapeutyków i co bardzo ważne - podanie insuliny nie zwiększa ubocznych efektów leczenia chemicznego.

Z ryciny 1 pracy opublikowanej w czasopiśmie *Scientific Reports* 2019 wynika, że najsilniejszy hamujący wpływ na żywotność komórek linii raka jelita grubego (linia Caco-2) po uprzedniej ekspozycji na insulinę odnotowano w odniesieniu do irinotekanu, a w drugiej kolejności w przypadku zastosowania 5-fluorouracylu. Z kolei w przypadku raka sutka statystycznie znamiennej poprawę wyników po uprzednim zastosowaniu insuliny odnotowano w odniesieniu do 5-fluorouracylu oraz cyklofosfamidu.

Autor nie ograniczył się do opisanie synergicznego efektu działania insuliny i chemioterapeutyków ale pokusił się również o zbadanie mechanizmów tego zjawiska.

Zdaniem Autora mechanizm „działania” insuliny w tym przypadku jest związany z hamowaniem ekspresji białek szlaku sygnałowego PIK3CA oraz GRB2 (t. j. białek odpowiedzialnych za prawidłowy wzrost, proliferację, migrację i przeżycie komórek w następstwie pobudzenie receptora dla insuliny (na uwagę zasługują bardzo ładne autorskie ryciny obrazujące omawiany mechanizm działania insuliny w dwóch publikacjach (*Scientific Reports* 2019 oraz *Tumor Biology* 2017)).

Co więcej, badania własne autora przeprowadzone na liniach komórkowych raka piersi i jelita wykazały, że nowe pochodne glukozy (tioglikozyd A i tioglikozyd B) charakteryzują się znaczną aktywnością cytotoksyczną, która ulega nasileniu w obecności insuliny (*Oncotarget* 2017), zatem kojarzenie leczenia chemicznego przy pomocy wybranych chemioterapeutyków z uprzednim lub równoczesnym podawaniem insuliny i pochodnych glukozy może przyczynić się do poprawy wyników leczenia systemowego u chorych na raka piersi i jelita grubego.

Wyniki tych badań są bardzo interesujące i winny być w kontynuowane gdyż mają potencjalnie szanse na ich wykorzystanie w praktyce. W przyszłości celowe byłoby przeprowadzenie tych samych badań na innych liniach komórkowych raka sutka. Komórki linii MCF-7, na których przeprowadzono badania są reprezentatywne jedynie dla estrogeno-zależnego raka sutka, który stanowi zdecydowaną większość złośliwych rozrostów sutka, ale aktualnie największym problem - z terapeutycznego punktu widzenia - jest tzw. potrójnie ujemny rak sutka (linią komórkową odpowiadającą temu rakowi jest np. MDA-MB-231)

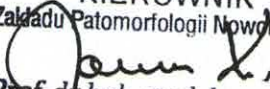
Doktorant jest pierwszym autorem wszystkich trzech doniesień stanowiących podstawę niniejszej rozprawy; zostały one opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej o znaczącym wskaźniku oddziaływania (*impact factor*- IF).

Przedstawiony do recenzji cykl trzech publikacji istotnie poszerza naszą wiedzę o potencjalnych możliwościach zwiększenia efektywności leczenia systemowego wybranych

złośliwych nowotworów. Przeprowadzone badania Autora mają charakter pionierski, a ich znaczenie zostało docenione przez recenzentów prestiżowych czasopism naukowych.

Podsumowując, w mojej ocenie cykl prac pt.: „**Insulina, chemioterapeutyki i pochodne glukozy w terapii nowotworów litych**” w pełni odpowiada kryteriom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i spełnia warunki określone w art. 13 ust 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U Nr 65, poz 595, z późniejszymi zmianami). Mając to na uwadze zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. med. Siddartha Agrawala do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W uznaniu wkładu pracy Doktoranta w przeprowadzenie kompleksowych badań laboratoryjnych oraz w uznaniu walorów przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej wnoszę do Wysokiej Rady wnioski o jej wyróżnienie.

KIEROWNIK
Zakładu Patomorfologii Nowotworów

Prof. dr hab. med. Janusz Ryś