

Gdańsk 10.05.2020r.

Prof. dr hab. med. Michał Studniarek
Kierownik Zakładu Radiologii
Wydziału Lekarskiego
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego



Recenzja pracy doktorskiej

Mgr Olgi Michel pt. „Ocena elektroporacji z wybranymi związkami przeciwnowotworowymi wobec ludzkich komórek raka”

Pracę wykonano w Katedrze i Zakładzie Biologii Molekularnej i Komórkowej oraz w Katedrze i Zakładzie Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego im. Powstańców Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem dr hab. inż. Julity Kulbackiej

Ocenę wykonałem na wniosek Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Medyczne prof. dr hab. Grzegorza Mazura przesłany mi w piśmie RD-BM/430/2020 z dnia 11.03.2020r.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska ma postać zszywki czterech publikacji, zgodnej z wymogami i zasadami akademickimi publikowania i prezentowania tego typu dysertacji.

W jej skład wchodzi następujące publikacje:

1. Olga Michel, Julita Kulbacka, Jolanta Saczko, „Adjuvant, neoadjuvant, and experimental regimens in overcoming pancreatic ductal adenocarcinoma” Przegląd Gastroenterologiczny 2016, 11, 3:155-162 (14 punktów MNiSW)
2. Olga Michel, Julita Kulbacka, Jolanta Saczko et al. „Electroporation with cisplatin against metastatic pancreatic cancer: In vitro study on human primary cell culture”. BioMed Research International, 2018, art. 7364539 (IF 2.197, MNiSW 25)
3. Olga Michel, Dawid Przystupski, Jolanta Saczko et al. „The favourable effect of catechin in elektrochemotherapy in human pancreatic cancer cells”. Acta Biochimica Polonica 2018, 65, 2:173-184 (IF 1.626, MNiSW 15)

4. Olga Michel, Andrei Pakhomov, Maria Casciola et al.

„Electropermeabilization does not correlate with plasma membrane lipid oxidation”. *Bioelectrochemistry* 2019 107433 (IF 4.474, MNiSW 100)

W zshywyce umieszczono zgodę odpowiedniej Komisji Bioetycznej uchwałą nr. KB 317/2017 z dnia 17 maja 2017 roku oraz oświadczenia wszystkich współautorów o zakresie ich udziału w opublikowanych pracach.

Prace połączono tekstem omówienia z załączonymi streszczeniami w języku polskim i angielskim. Dołączono wykaz dorobku naukowego Doktorantki, wykaz nagród i wyróżnień, wykaz udziału w projektach naukowych i przynależności do towarzystw naukowych.

W omówieniu scharakteryzowano w znakomitym skrócie problematykę istoty technik wykorzystujących pole elektryczne do zmian biodystrybucji leków przeciwnowotworowych stosowanych w onkologii. Ich celem jest rozszczelnienie błon komórkowych i zwiększenie transportu leków do wnętrza komórek, co prowadzi do zwiększenia ich stężenia w guzie.

Doktorantka omawia zastosowanie impulsów elektrycznych wobec komórek nowotworowych in vitro. Przypomina, że w zależności od zastosowanego napięcia, natężenia i czasu trwania impulsu elektrycznego, wytwarza on pole elektryczne w środowisku tkankowym, które zmienia przepuszczalność błon komórkowych dla substancji znajdujących się w przestrzeni międzykomórkowej, wprowadzonych do organizmu pozajelitowo lub dojelitowo. Oczekiwanym efektem ma być wzrost stężenia leków przeciwnowotworowych w komórkach raka.

Ostatnie 20 lat w nauce to okres intensywnego zgłębiania sposobów wprowadzania różnych substancji (jonów, cząstek chemicznych, nanocząstek, itp.) do wnętrza komórek z docelowym zamysłem ich modyfikacji lub zniszczenia, ale bez naruszenia podścieliska. Gruczolakorak trzustki jest nowotworem szczególnym, o bardzo wysokiej śmiertelności, niskiej efektywności dostępnego leczenia i bardzo późnej wykrywalności. Ponadto trzustka, z punktu widzenia możliwości radykalnego leczenia, jest również narządem szczególnym, bogatym w rozmaite tubularne struktury, których uszkodzenie często prowadzi do groźnych powikłań. Resekcje raka trzustki rzadko bywają radykalne (R0), ale nawet w takich sytuacjach szybko dochodzi do wznowy miejscowej nowotworu. Wzrost raka trzustki jest bowiem

nieregularny, nieprzewidywalny i przebiega często wzdłuż rozmaitych struktur (np. nerwów), co prowadzi do postaci wielogniskowych.

Problem jest niesłychanie poważny. Pojawienie się sposobu na zwiększenie skuteczności chemicznego leczenia raka trzustki spowodowało wzrost zainteresowania świata lekarskiego tą możliwością. Taką metodą jest zastosowanie pól elektrycznych do zwiększenia dokomórkowego transportu leków przeciwnowotworowych. Doktorantka wybrała więc jedno z współczesnych pól badawczych w medycynie.

Uważam, że tematyka prezentowanych badań wpisuje się w najbardziej aktualny kierunek badań światowych. Autorka skupia się również na możliwości wykorzystania dodatkowych mechanizmów wspomagających transport cisplatyny do komórek raka.

Celem pierwszej, poglądowej pracy „Adjuvant, neoadjuvant, and experimental regimens in overcoming pancreatic ductal adenocarcinoma” jest pełnowartościowa analiza danych w dostępnych publikacjach anglojęzycznych (77) dotyczących tego zagadnienia, tzn. wpływu pól elektrycznych na żywe komórki. Doktorantka przegląda rozmaite metody stosowane w systemowym i lokalnym leczeniu raka trzustki, podkreślając ich nieskuteczność. Z metod leczenia chemicznego omawia 7 schematów leczenia, zwracając uwagę między innymi na objawy uboczne związane z koniecznością osiągnięcia wysokich, skutecznych stężeń prowadzących niestety również do ciężkich i częstych powikłań. W tym kontekście możliwość zwiększenia wewnątrzkomórkowego stężenia chemioterapeutyku przy niższych stężeniach systemowych dzięki elektroterapii jest bardzo interesująca.

W analizowanych pracach potwierdzono potrzebę poszukiwania nowych sposobów leczenia raka trzustki.

Celem drugiej, oryginalnej pracy . „Electroporation with cisplatin against metastatic pancreatic cancer: In vitro study on human primary cell culture” jest porównanie wrażliwości ludzkich komórek gruczolakoraka trzustki na cisplatynę w formie inkubacji lub elektrochemioterapii in vitro. Dowiedziono, że odporne na cisplatynę komórki z hodowli pierwotnej wykazują dużą wrażliwość na działanie zewnętrznych pól elektrycznych. Prowadzi to do zwiększenia transportu leku w wyniku indukowanej elektropermeabilizacji i prowadzi do obniżenia przeżywalności komórek o 70% w porównaniu do komórek inkubowanych z samą cisplatyną. Wykazano również, że efekt elektroporacji słabnie w liniach ustalonych raka trzustki, prawdopodobnie w wyniku nabywanych przez komórki mechanizmów obronnych.

W trzeciej pracy „The favourable effect of catechin in elektrochemotherapy in human pancreatic cancer cells” Doktorantka podjęła próbę uwrażliwienia błon komórek nowotworowych na elektrochemioterpię za pomocą nietoksycznego związku – katechiny – bioflawonoidu pozyskiwanego z liści zielonej herbaty. W eksperymencie Autorzy wykazali, że wprowadzenie katechiny do hodowli wzmacnia skuteczność elektroporacji z cisplatyną in vitro.

Autorka sugeruje, że ta ciekawa interakcja może być przydatna klinicznie, ale wymaga dalszych szerszych badań.

Warto zauważyć, że Autorka starannie wskazuje słabe strony swoich badań, co niewątpliwie dowodzi Jej osobistej rzetelności.

Celem czwartej pracy „Electropermeabilization does not correlate with plasma membrane lipid oxydation” było sprawdzenie, czy utlenienie lipidów błon komórkowych może obniżyć próg energetyczny niezbędny dla wystąpienia elektropuszczalności. W dość skomplikowanym eksperymencie wykazano, że mimo występującego oksydacyjnego efektu impulsu elektrycznego nie ma to znaczenia dla efektywności elektroporacji.

Cele przeprowadzonych badań, opublikowanych w trzech pracach oryginalnych Doktorantka ładnie prezentuje na rycinie 1 w przystępnej nawet dla lekarza formie graficznej, z wyszczególnieniem tych osiągniętych i nie osiągniętych. Łączny wskaźnik oddziaływania publikacji IF wynosi 8,297 (punktacja MNI SW 154), co zasługuje na wyróżnienie osiągnięcia Doktorantki.

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na pewne niejasności i niedociągnięcia, które znalazłam w tekście pracy:

1. W tytule pracy widnieją ... wybrane związki nowotworowe..., a tymczasem w zestawieniu analizowane jest wyłącznie zastosowanie cisplatyny – może lepiej byłoby „Ocena efektywności elektroporacji z cisplatyną wobec ludzkich komórek raka trzustki” . Można by zastanawiać się też, czy nie zastąpić efektywności efektem, a słowo „wobec” zastąpić „w”:
Otrzymałybyśmy „Ocena efektu elektroporacji z cisplatyną w ludzkich komórkach raka trzustki in vitro” lub „Ocena wpływu elektroporacji na stężenie cisplatyny w ludzkich komórkach raka trzustki in vitro”
2. Elektrochemioterapia nie jest moim zdaniem alternatywą dla stosowanych metod leczenia raka trzustki, ale może stanowić uzupełnienie prowadzące

do zwiększenia jego skuteczności. Taką opinię Doktorantka umieściła w streszczeniu.

3. W tymże streszczeniu Autorka podkreśla brak postępów w leczeniu raka trzustki, co moim zdaniem jest krzywdzące dla onkologów i chirurgów w kontekście nowych schematów leczenia systemowego o rosnącej skuteczności oraz znacznego postępu w technikach leczenia chirurgicznego.
4. Na stronie 10 w 10 wierszu od góry zamiast „tą różnicę” winno być „tę różnicę” (kogo co - biernik)
5. W opisie ryciny 1 w trzecim wierszu pojawiły się dwa określenia: „guza raka trzustki” – wystarczy jedno
6. W pracy poglądowej w rozdziale poświęconym leczeniu chirurgicznemu Autorka podaje kryteria resekcyjności raka trzustki, ale kończy zdanie stwierdzeniem, że w tych okolicznościach zmiana jest nieresekcyjna.
7. W tymże rozdziale brakuje mi wspomnienia o modyfikacji resekcji trzustki pozwalającej na większą skuteczność wprowadzonej niedawno pod nazwą RAMPS.

Są to oczywiście niedociągnięcia nie mające cech obniżających wartość pracy, a więc nie mogą mieć wpływu na moją końcową ocenę. Przeciwnie, przedstawiona mi do recenzji praca potwierdza, że Doktorantka posiada systematyczną wiedzę z zakresu tematyki pracy doktorskiej, potrafi analizować swoje wyniki, zgodnie z aktualnym stanem wiedzy.

Jednoznacznie stwierdzam, że żadna z powyższych uwag w żaden sposób nie wpływa na wartość pracy, którą uważam za szczególnie interesującą, doskonale udokumentowaną i wartą szczegółowego zapoznania się z jej treścią przez chirurgów, onkologów i radiologów.

Reasumując, uważam że rozprawa doktorska mgr Olgi Michel pt. **„Ocena elektroporacji z wybranymi związkami przeciwnowotworowymi wobec ludzkich komórek raka”** spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami). Rozprawa jest pracą wartościową również z punktu widzenia klinicznego i świadczy o dużej wiedzy

Autorki w zakresie podjętego problemu. To wspaniała Kandydatka, która może się poszczycić bogatym dorobkiem o łącznym wskaźniku oddziaływania $IF=33,331$ (702 punkty MNiSW). Gratuluję.

Mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Olgi Michel do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie powyższej pracy.



Prof. dr hab. med. Michał Studniarek