

Houston, TX, 14.02.2018 r.

**Ocena rozprawy doktorskiej Pani mgr Emanueli Pucko  
zatytułowanej: “Wrażliwość nowotworów glejopochodnych o niskim i  
wysokim stopniu złośliwości na cytotoksyczne działanie wybranych  
inhibitorów kinaz białkowych w warunkach in vitro”.**

Recenzowana praca doktorska Pani mgr Emanueli Pucko została wykonana w Zakładzie Neuropatologii Doświadczalnej i Klinicznej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Massakowskiego, PAN pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Matyji. Zakład Neuropatologii zatrudnia wysoko wyspecjalizowaną grupę naukowców w zakresie badań ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i prowadzi między innymi badania nad nowotworami OUN. Niniejsza praca doktorska jest kontynuacją tematyki tego Zakładu i bazuje na doświadczeniu jego liderów jak i całego zespołu.

Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego pozostają wciąż ogromnym wyzwaniem dla naukowców na całym świecie. Szanse przeżycia pacjentów zdiagnozowanych z glejakiem wielopostaciowym są jedne z najniższych ze wszystkich typów raka. Pacjenci z glejakiem IV stopnia zazwyczaj nie przeżywają 12 miesięcy. Praca mgr Pucko adresuje częściowo poszukiwania nowych podejść do leczenia tego typu nowotworów.

Głównym celem recenzowanej pracy doktorskiej była ocena efektów wybranych inhibitorów kinazy kazeinowej CK2 oraz zmodyfikowanych pochodnych pentabromobenzoyloizotiomocznika na proliferację i proces apoptozy in vitro. Badania przeprowadzono używając linie komórkowe nowotworów mózgu o wysokim i niskim stopniu złośliwości, oraz w celach porównawczych linie komórkową prawidłowych astrocytów ludzkich. Rezultaty badań były użyte do wstępnej oceny przydatności inhibitorów kinazy kazeinowej CK2, a w szczególności pochodnych pentabromobenzoyloizotiomocznika jako potencjalnych leków przeciw nowotworom ośrodkowego układu nerwowego.

Przestawiona do recenzji rozprawa we wstępie opisuje typy nowotworów ośrodkowego układu nerwowego, analizuje rolę kinazy kazeinowej CK2 i dokładnie przedstawia klasę związków będącą przedmiotem badań oraz dyskutuje procesy

apoptozy. Czytanie tej części rozprawy wskazuje na bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Doktoranta do planowania i realizacji badań.

Doktorantka wybrała do badań 3 linie komórkowe: T98G linię komórek ludzkiego glejaka o wysokim stopniu złośliwości - glioblastoma (WHO GIV), SEGA, linie nowotworu glejopochodnego (gwiaździak podwyściółkowy olbrzymiokomórkowy) o niskim stopniu złośliwości, oraz linie prawidłowych astrocytów ludzkich (HA).

Do oceny in vitro Doktorantka wyselekcjonowała cztery inhibitory kinazy kazeinowej CK2: DMAT - 2-dimetylamino-4,5,6,7-tetrabromo-1H-benzimidazol; TBI - 4,5,6,7-tetrabromo-1H-benzimidazol; TBB - 4,5,6,7-tetrabromo-1H-benzotriazol; TBIAEA - 2-aminoetylamino-4,5,6,7-tetrabromo-1H-benzimidazol oraz w celach porównawczych Temozolomid (Temodal), związek cytotoksyczny powszechnie stosowany w leczeniu nowotworów mózgu. Pochodne izotiomocznika zsyntetyzowane przez Prof. dr hab. Kazimierczuka, które zostały wybrane do testowania w większości zawierają fragmenty molekularne zbliżone do wybranych inhibitorów kinazy kazeinowej.

Przeprowadzone badania wykazały, że zarówno pochodne izotiomocznika jak i inhibitory CK2 znacząco inhibują proliferację komórek nowotworowych zarówno o wysokim, jak i niskim stopniu złośliwości. Związki ZKK-13 i TRIM wykazały zwiększoną cytotoksyczność w porównaniu z resztą badanych związków. Związek ZKK-3 wykazał silne zdolności indukowania apoptozy potwierdzone różnymi metodami. Interesujący jest też wyraźny efekt ZKK-3 obniżający ekspresję antyapoptotycznego białka Bcl-2 oraz ufosforylowanej kinazy PKD1. W badaniach kombinacji związku ZKK-3 z inhibitorami CK2 (TBI, DMAT) nie wykazano synergizmu. Niepokojąca wydaje się być obserwowana znaczna cytotoksyczność badanych związków w stosunku do prawidłowych astrocytów.

W przyszłej pracy Doktoranta może warto zastanowić się nad użyciem macierzystych komórek glejaka w testowaniu nowych potencjalnych leków przeciwnowotworowych.

W podsumowaniu wszystkie ważne cele pracy doktorskiej zostały zrealizowane, mimo że praktyczne użycie testowanych związków może być ograniczone. Rozprawa doktorska, mimo że zawiera znaczną ilość opisów doświadczeń, informacji wstępnych i dyskusji wyników, jest przedstawiona logicznie i zrozumiale. Doktorant wykazał się umiejętnością i wiedzą w

THE UNIVERSITY OF TEXAS

**MD Anderson**  
**Cancer Center**

Making Cancer History®

Waldemar Priebe, M.Sc., Ph.D.

Professor

The University of Texas MD Anderson Cancer Center

wpriebe@mdanderson.org

D 713-792-3777, C 713-444-2226

Department of Experimental Therapeutics

1901 East Road; Houston, TX 77054

projektowaniu doświadczeń i zdolnościami samodzielnego prowadzenia eksperymentów.

Stwierdzam, że przedłożona rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania przewidziane Ustawą z dn. 18 marca, 2011 r. o stopniach naukowych i tytułach naukowych. Niniejszym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN o dopuszczenie Pani mgr Emanueli Pucko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,



Prof. Waldemar Priebe