



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Prof. dr hab. Michał Piotr Marszałł

KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII LEKÓW
ul. Dr Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz,
tel. +48 52 585 35 32, fax. +48 52 585 35 29
e- mail: mmars@cm.umk.pl

Bydgoszcz, dn. 18.07.2022 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Thi Yen Ly Huynh

„Metabolomic approach to understand the mechanism of metformin-induced PRODH/POX-dependent apoptosis in MCF-7 breast cancer cells”

wykonanej pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Jerzego Pałkę,

w Zakładzie Chemii Leków

Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku



RPN/14658/2022
Data:2022-07-27
UMB

Interdyscyplinarna systemika kryje w sobie wielki potencjał, który może doprowadzić do lepszego zrozumienia działania organizmów żywych, a następnie do opracowania skutecznej diagnostyki chorób i ich optymalnej farmakoterapii. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani Thi Yen Ly Huynh jest przykładem badań z wykorzystaniem narzędzi metabolicznych do wyjaśnienia i zrozumienia biologiczno-chemicznych zasad funkcjonowania organizmu w odpowiedzi na farmakoterapię wybranej pochodnej z grupy biguanidów. Temat rozprawy doktorskiej jest jak najbardziej aktualny, gdyż przeprowadzone na przestrzeni dwóch ostatnich dekad metaanalizy badań randomizowanych, wykazują znaczny wpływ metforminy stosowanej u pacjentów z cukrzycą typu II na zmniejszenie ryzyka wystąpienia nowotworów.

Badania zrealizowane przez doktorantkę wpisują się w nurt badań prowadzonych przez zespół z Zakładu Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. To właśnie dotychczasowe badania zespołu pana prof. Jerzego Pałki dotyczą m. in. wpływu metabolizmu wybranych aminokwasów na regulację procesu apoptozy/autofagii

w komórkach nowotworowych. Rozprawa doktorska liczy 116 stron i poprzedzona jest spisem treści oraz wykazem skrótów, który jest bardzo przydatny. Część teoretyczna stanowi bardzo ciekawy i skondensowany zasób obecnej wiedzy dotyczący biochemii oraz wpływu metforminy na hamowanie proliferacji komórek nowotworowych bazującej na literaturze oraz na podstawie hipotez postawionych przez doktorantkę i współautorów. Następnie został przedstawiony cel, opis wyników, dyskusja, wnioski, streszczenie i piśmiennictwo.

Rozprawa doktorska stanowi cykl dwóch publikacji o łącznym współczynniku IF wynoszącym 8,275, w których doktorantka jest główną autorką. Do pracy dołączono powyżej opisane publikacje oraz oświadczenia współautorów, które podkreślają jej duży wkład w ich powstanie. Pierwsza publikacja (*Molecular and Cellular Biochemistry*) obejmuje opis dotychczasowej wiedzy i dyskusję na temat roli wybranych aminokwasów na regulację funkcji dehydrogenazy prolinowej/oksydazy prolinowej (PRODH/POX). Ważnym elementem publikacji, jako części dysertacji jest postawienie ciekawej hipotezy opartej na dotychczasowej wiedzy i doświadczeniu zarówno doktorantki jak i promotora. Zakłada ona aktywację kinazy AMP przez metforminę, która to z kolei indukuje proces apoptozy w komórkach nowotworowych. Autorzy zakładają, że na proces apoptozy wpływ mają reaktywne formy tlenu generowane przez dehydrogenazę prolinową/oksydazę prolinową w warunkach dostępności proliny. Postawiona hipoteza została szczegółowo przedstawiona przez autorów we wskazanej powyżej publikacji na rycinie nr 1 (str 51 dysertacji).

W konsekwencji, powiązanie powyższych procesów oraz stymulujące działanie metforminy na AMP (AMPK) pozwala na rozszerzenie hipotezy o ww. mechanizmie udziału metforminy w apoptozie/autofagii, co stanowiłoby dowód działania przeciwnowotworowego leku od lat stosowanego w farmakoterapii cukrzycy typu II. Powyższe założenia stały się głównym celem rozprawy doktorskiej pani Thi Yen Ly Huynh, którym jest ocena mechanizmu przeciwnowotworowego działania metforminy w komórkach raka piersi MCF-7.

Część eksperymentalna została opisana zarówno w dysertacji jak również opublikowana w czasopiśmie *Biomolecules*. Do weryfikacji hipotez konieczne było użycie modelu *in vitro* – komórek raka piersi MCF-7 typu dzikiego oraz z wyciszoną ekspresją PRODH/POX. Wpływ metforminy wykonano i oceniono przy użyciu analizy metabolicznej porównując profile metaboliczne ww. linii komórkowych, oceniając ekspresję białek proapoptycznych, określając proliferację oraz cykl komórkowy w różnych warunkach metabolicznych. Uzyskane wyniki wskazują na fakt, że metformina wpływa hamująco na proces proliferacji komórek MCF-7 oraz z wyciszoną ekspresją PRODH/POX – szczególnie w przypadku braku glutaminy. Lek

przyczynia się również do indukcji apoptozy poprzez przeprogramowanie metabolizmu aminokwasów, cyklu kwasów trikarboksylowych, cyklu mocznikowego i szlaku pentozowo-fosforanowego ww. komórkach. Analiza metaboliczna wskazuje natomiast na zależność procesu glikolizy od metabolizmu glutaminy i proliny. Opisane wyniki otwierają nowe możliwości w tym kierunku i mogą mieć w przyszłości ogromne znaczenie w nowej strategii farmakoterapii chorób nowotworowych. Dlatego wnioski przedstawione przez doktorantkę są uzasadnione a wyniki wzbogacają wiedzę dotyczącą mechanizmu przeciwnowotworowego działania metforminy. Ważnym spostrzeżeniem jest również fakt, że skojarzone działanie metforminy z inhibitorami syntezy glutaminy może stanowić potencjalną strategię w farmakoterapii raka piersi

Podczas lektury dysertacji nasuwają się pytania:

- w publikacji w *Biomolecules* doktorantka w dyskusji wskazała, że badania epidemiologiczne potwierdzają wpływ stosowania metforminy na zmniejszenie ryzyka zachorowalności na raka jelita, wątroby i płuc oraz w związku z tym spadek śmiertelności. Czy można przypisać temu podobny mechanizm - jak to ma miejsce w przypadku postawionej hipotezy w dysertacji?
- derywatyżacja aminokwasów jest zalecana również do analizy chromatograficznej LCMS/MS aby zwiększyć selektywność metody szczególnie związków małowcząsteczkowych o zbliżonej strukturze. Czy w związku z tym brak takiej procedury sprawiał kłopot podczas analizy wybranych aminokwasów?

Należy zwrócić uwagę, że rozprawa doktorska jest napisana w języku angielskim, a pani Thi Yen Ly Huynh jest doktorantką Międzynarodowych studiów doktoranckich w zakresie biologii medycznej i biostatystyki w dziedzinie nauk medycznych i farmaceutycznych na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej realizowanych w ramach projektu finansowanego przez Komisję Europejską – akcja Marii Skłodowskiej-Curie w Programie Ramowym Horyzont 2020 oraz ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Część pracy eksperymentalnej (analizę metaboliczną) wykonała podczas zagranicznego stażu naukowego w Centrum Badań Metabolicznych i Bioanalizy (San Pablo University, Madryt) pod opieką prof. Coral Barbas. Zadania badawcze były częścią realizowanego projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki – OPUS, którego kierownikiem jest promotor. Świadczy to zarówno o trafności podjętej tematyki badawczej jak również o jej oryginalności.