

Warszawa, 03.04.2019 r.

dr hab. Arkadiusz Szterk, prof. NIL  
Z-ca Dyrektora ds. Naukowych  
Kierownik merytoryczny  
Zakładu Metod Spektrometrycznych  
Narodowy Instytut Leków w Warszawie

Dziekanat  
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego  
wpłynęło dn. 2019.04.10  
podpis MMO l.dz. 525

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej Pani mgr Wioletty Rozpędek pt. „Inhibitory zależnej od stresu ER kinazy PERK, jako potencjalne nowe podejście do terapii choroby Alzheimer’a”

Wykonanej pod kierunkiem Pana prof. dr hab. n. med. Ireneusza Majsterka w Zakładzie Chemii i Biochemii Klinicznej Międzywydziałowej Katedry Chemii i Biochemii Medycznej na Wydziale Wojskowo-Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Choroba Alzheimer’a (AD) jest najczęściej występującym schorzeniem o symptomatologii otępiennej i stanowi jeden z ważniejszych problemów społecznych naszych czasów. AD najczęściej pojawia się po sześćdziesiątym roku życia i polega na stopniowej utracie pamięci. Jednakże do objawów choroby należą także zaburzenia zachowania oraz objawy psychiatryczne. U wielu pacjentów z AD pojawiają się objawy o charakterze neuropsychiatrycznym takie jak urojenia dotyczące najczęściej kradzieży, zdrady lub opuszczenia przez bliskich, halucynacje lub omamy. Choroba ta jest na tyle ważnym problemem społecznym, że w 2014 r na srebrnym ekranie pojawił się film pt. „Motyl Still Alice” (adaptacja powieści Motyl z 2007 r.) w reżyserii Richarda Glatzera oraz Washa Westmorelanda. "Wolałabym mieć raka" - powie w jednej ze scen "Still Alice" cierpiąca na chorobę Alzheimer’a główna bohaterka filmu. Nie umniejszając skali tragedii osób, na co dzień zmagających się z nowotworem, trudno uznać jej słowa za niestosowne. Żadne, bowiem inne schorzenie nie wyniszcza człowieka tak jak AD, które bezwzględnie dewastuje umysł. Sukcesywnie okrada ze wspomnień, a co za tym idzie również z tożsamości. AD uszkadza neurony ruchowe jest przyczyną częstych upadków i trudności z chodzeniem. Chory traci kontrolę nad czynnościami fizjologicznymi i coraz więcej czasu spędzają w łóżku.

W terminalnej fazie choroby pacjenci całkowicie tracą kontakt z otoczeniem i bardzo często nie rozpoznają nawet najbliższych. Chorzy często muszą być cewnikowani, zanika u nich odruch połykania. Umierają z powodu powikłań związanych z długotrwałym leżeniem prowadzącym do zaburzeń krążenia, oddychania lub wystąpienia zmian septycznych. Z drugiej strony zajmowanie się chorym z reguły pociąga za sobą bardzo poważne obciążenie psychiczne, fizyczne i finansowe, ponieważ wpływa zarówno na warunki i styl życia oraz na sprawy finansowe czy karierę zawodową członków rodziny. Należy dodać, że rodzinni opiekunowie poświęcają około dziesięciu lat życia na zajmowanie się bliską osobą, która stopniowo traci sprawność fizyczną i intelektualną, przy czym w chwili obecnej nie ma żadnych szans na jej powrót do zdrowia. Leczenie AD to leczenie objawowe, którego celem jest zmniejszyć cierpienie osoby chorej oraz spowolnić przebieg choroby. Grupy naukowców na całym świecie prowadzą badania nad znalezieniem leku na AD, który mógłby, co najmniej zatrzymać rozwój choroby we wczesnym jej stadium, a najlepiej zatrzymać i cofnąć jej dewastacyjne skutki. W świetle powyższego dysertacja Pani mgr Wioletty Rozpędek zbiega się z aktualnymi trendami badawczymi, co czyni ją w pełni zasadną, a wręcz pożądaną i potrzebną z punktu widzenia naukowego, poznawczego oraz społecznego.

Przedstawiona do oceny praca jest typowym opracowaniem o charakterze eksperymentalnym. Stanowi zbiór spójnych tematycznie artykułów, opublikowanych w czasopiśmie naukowych, które znajdują się w wykazie czasopism określonym przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki. Oceniana dysertacja obejmuje: 71 stron, w tym 3 rysunki oraz 1 tabelę. Struktura i podział części pracy są prawidłowe i obejmują część literaturową (uzasadnienie podjęcia pracy) – 10 stron, założenia i cele pracy – 4 strony, opis materiałów i metod badawczych – 8 stron, a pozostałą część zajmuje omówienie i dyskusja wyników wraz z podsumowaniem oraz wnioskami (łącznie 22 strony). Spis literatury obejmuje 10 stron. Ostatnim i najważniejszym elementem ocenianej pracy jest załącznik zawierający wydrukowane artykuły naukowe będące podstawą rozprawy doktorskiej Pani mgr Wioletty Rozpędek (2 artykuły przeglądowe o łącznym IF = 5,709 oraz dwa oryginalne artykuły badawcze opublikowane w polskich czasopiśmie za łączną liczbę punktów 13).

W bardzo rzeczowej części teoretycznej Autorka wprowadza czytelnika w zagadnienie i uzasadnienie wyboru tematu oraz celu badań. Przegląd literatury wyjątkowo dobrze opisuje chorobę Alzheimera, jako schorzenie neurodegeneracyjne. Autorka szczegółowo

charakteryzuje je z punktu widzenia podłoża genetycznego choroby, mechanizmów powstawania złogów amyloidu beta oraz stresu retikulum endoplazmatycznego. W sposób przejrzysty wręcz mistrzowski, opisany został mechanizm aktywacji szlaku adaptacyjnej odpowiedzi na stres zależnego od kinazy PERK, który stanowi podstawę ocenianej dysertacji. Dobór pozycji piśmiennictwa i ich wykorzystanie, nie tylko w części teoretycznej, ale także przy omawianiu uzyskanych wyników, świadczą o umiejętności korzystania przez Autorkę z dostępnej literatury i o bardzo dobrym rozeznaniu w badanej problematyce.

Na podstawie wstępu teoretycznego Autorka sformułowała trzy bardzo ambitne cele pracy. Zakres zadań badawczych został określony prawidłowo adekwatnie do postawionych celów pracy. Zakres doświadczeń przedstawiono przejrzysto w kolejnych rozdziałach dysertacji i ma on odzwierciedlenie w zaproponowanej metodyce badawczej. Opis w zakresie materiałów i metodyki badawczej także sformułowano bardzo klarownie i zrozumiale.

Należy podkreślić, że oceniana praca posiada bogaty materiał doświadczalny. Charakteryzuje ją różnorodność zastosowanej metodyki. Odnosząc się do wyników i ich dyskusji stwierdzam, iż Autorka wykonała bardzo dużo pracy w zakresie wyboru potencjalnych niskocząsteczkowych inhibitorów kinazy PERK. Z bazy ponad 200 000 związków w wyniku zastosowania modelowania molekularnego wyselekcjonowała przy współpracy z innym ośrodkiem naukowym 3 najbardziej potencjalnie aktywne substancje chemiczne (LDN-007330, LDN-0066739 oraz LDN-0060609), które poddała następnie badaniu. Włożyła także bardzo dużo staranności w analizę poziomu białek markerowych szlaku adaptacyjnej odpowiedzi na stres: p-eIF2 $\alpha$  oraz CHOP, w komórkach traktowanych wyselekcjonowanymi niskocząsteczkowymi inhibitorami. Wyniki prac wykazały, że najbardziej obiecującym związkiem jest LDN-0060609 i na nim skupiły się dalsze badania. Autorka wykazała brak cytotoksyczności wyselekcjonowanego niskocząsteczkowego inhibitora w szerokim zakresie stężeń. Analiza poziomu apoptozy oraz progresji cyklu komórkowego nie wykazała zmian w badanych astrocytach szczurzych linii DI TNC1 traktowanych wyselekcjonowanym inhibitorem.

W odniesieniu do tej części pracy nasuwa się tylko jedno pytanie związane z badanymi substancjami chemicznymi. Czy Autorka mogłaby przedstawić lub/i omówić struktury chemiczne badanych niskocząsteczkowych inhibitorów kinazy PERK?

W końcowej części pracy Autorka dysertacji sformułowała trzy wnioski, które znajdują odzwierciedlenie w wynikach przeprowadzonych doświadczeń. Świadczą one o pełnym zrealizowaniu celów postawionych w założeniach pracy.

Jednocześnie sformułowane wnioski zmuszają mimo wszystko do zadania pytania, co dalej? Czy Autorka kontynuuje prace nad badanym związkiem oraz czy istnieje realna szansa, że badany związek lub inne związki np. jego pochodne znajdzie/znajdą zastosowanie w leczeniu AD?

Z redakcyjnego punktu widzenia wysoko oceniam staranność Autorki w opracowaniu przedstawionej dysertacji. Rysunki i tabele zamieszczone w rozdziałach poświęconych omawianiu wyników pozwalają na ich dobrą interpretację. Na podkreślenie zasługuje także potencjalny aplikacyjny charakter pracy, który w przyszłości może zaowocować opracowaniem innowacyjnego – skutecznego leku umożliwiającego przynajmniej zahamowanie rozwoju AD. Bazując na wartości dodanej, jaką niesie omawiana dysertacja uważam, że jest to wyróżniająca się praca doktorska, gdyż ukierunkowana od samego początku nie tylko na wysoki poziom naukowy prowadzonych badań, ale praktyczne ich wykorzystanie w opracowaniu potencjalnego nowego leku.

Rozważając całość ocenianej pracy stwierdzam, że zawiera ona kompleksowe opracowanie eksperymentalne, w wielu elementach nowatorskie i aplikacyjne. Rozprawa naukowa Pani mgr Wioletty Rozpędek pt. „Inhibitory zależnej od stresu ER kinazy PERK, jako potencjalne nowe podejście do terapii choroby Alzheimera” jest wykonana na wysokim poziomie i w pełni odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim. Dlatego przedkładam Radzie Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Pani mgr Wioletty Rozpędek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie tej pracy.

