

dr hab. n. farm. Ewa Bębenek, prof. ŚUM

Sosnowiec, 29.12.2025 r.

Katedra i Zakład Chemii Organicznej

Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu

ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

ebebenek@sum.edu.pl

tel. 32 364 16 66

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr inż. Agaty Kawulok

zatytułowanej

**„Badanie aktywności przeciwnowotworowej nowych kombinacji
terapeutycznych opartych na gemcytabinie i niesteroidowych
lekach przeciwzapalnych z wykorzystaniem mezenchymalnych
komórek macierzystych jako nośników”**

Przedłożona do recenzji praca doktorska została zrealizowana pod kierunkiem Pani dr hab. Violetty Kozik, prof. UŚ w Instytucie Chemii Wydziału Nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Dysertacja powstała w ramach realizacji grantu ExCELLent ufundowanego przez Polski Bank Komórek Macierzystych S.A. pt. „Ocena przydatności mezenchymalnych komórek macierzystych jako nośnika nowych pochodnych gemcytabiny” oraz subwencji zespołu badawczego Bioorganika Instytutu Chemii Wydziału Nauk Ścisłych i Technicznych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

Recenzja pracy doktorskiej została przygotowana w oparciu o uchwałę Komisji Interdyscyplinarnej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach z dnia 27 października 2025 roku oraz pismo Dyrektora Instytutu Chemii Wydziału Nauk Ścisłych i Technicznych Pana prof. dr hab. Roberta Musioła.

Choroby nowotworowe są nadal w Polsce i na świecie jedną z głównych przyczyn zgonów, pomimo dostępu pacjentów do różnych metod leczenia. Ograniczeniem liczby nowych przypadków zachorowania na choroby nowotworowe może być wykorzystanie wiedzy z różnych obszarów nauki pozwalające na opracowanie nowych strategii terapeutycznych.

Jednym z najtrudniejszych do rozpoznania i leczenia nowotworów jest gruczolakorak przewodowy trzustki. Pięcioletni wskaźnik przeżycia dla tego nowotworu jest niski i wynosi

zaledwie 10%. Obecnie jednym ze standardowych leków stosowanych w leczeniu gruczolakoraka trzustki jest gemcytabina. Badania związane z otrzymaniem nowych koniugatów gemcytabiny oraz opracowaniem nowych strategii dostarczania tego leku do komórek nowotworowych poprzez zastosowanie nanonośników mają na celu poprawę biodostępności i zmniejszenie toksyczności. Ważnym kierunkiem jest również poszukiwanie nowych kombinowanych terapeutyków opartych na gemcytabinie. W nurt takich badań wpisuje się niniejsza rozprawa doktorska Pani mgr inż. Agaty Kawulok.

Głównym celem badań Doktorantki było zbadanie kombinacji gemcytabiny z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi (NLPZ) takimi jak kwas acetylosalicylowy, ibuprofen i flurbiprofen wobec trzech linii komórkowych nowotworu trzustki PANC-1, AsPC-1 i BxPC-3 oraz wytypowanie najbardziej obiecującego połączenia gemcytabina-NLPZ do dalszych badań aktywności przeciwnowotworowej. Pani mgr inż. Agata Kawulok w ramach przeprowadzonych prac dokonała oceny przydatności mezenchymalnych komórek macierzystych szpiku kostnego (BM-MSC) jako nośników najbardziej obiecującej kombinacji gemcytabiny i NLPZ. Doktorantka zaplanowała również syntezę nowych koniugatów cytydyny i gemcytabiny z NLPZ.

Recenzowana praca doktorska ma poprawny układ, typowy dla tego rodzaju opracowań naukowych, z podziałem na część literaturową i część eksperymentalną. W pracy zamieszczono również spis treści, wykaz skrótów, wykaz stosowanych odczynników, wykaz zestawów do badań biologicznych, wykaz aparatury oraz użytego oprogramowania, referencje (196 pozycji), spis rysunków (30 rysunki), spis tabel (5 tabel) oraz dane bibliometryczne.

Na początku części literaturowej Doktorantka zamieściła charakterystykę nowotworu trzustki, zdefiniowała pojęcia podścieliska, genów supresorowych i chemiooporności w nowotworze trzustki oraz omówiła znaczenie bariery podścieliskowej w biotransformacji leków.

W dalszej części Pani mgr inż. Agata Kawulok przedstawiła metabolizm i aktywację wewnątrzkomórkową gemcytabiny. Omówiła także możliwe modyfikacje strukturalne gemcytabiny mające na celu poprawę skuteczności terapeutycznej tego cytostatyku i ograniczenie skutków ubocznych jego stosowania.

W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawiła charakterystykę stanu zapalnego i jego związek z rozwojem nowotworów oraz omówiła klasyfikację wybranych NLPZ ze względu na ich strukturę oraz selektywność wobec enzymów cyklooksygenazy (COX-1 i COX-2). W oparciu o aktualne doniesienia literaturowe opisała działanie przeciwnowotworowe wybranych leków przeciwzapalnych oraz ich połączenia z gemcytabiną dające możliwość ograniczenia stanu zapalnego towarzyszącego nowotworowi oraz nasilenia cytotoksyczności gemcytabiny. W odniesieniu do badań podjętych przez Doktorantkę ważne wydaje się opisanie

metod syntezy pochodnych gemcytabiny z NLPZ oraz zestawienie najczęściej stosowanych czynników kondensujących w syntezie organicznej.

Ostatnia część wstępu literaturowego poświęcona jest mezenchymalnym komórkom macierzystym. Poznanie właściwości mezenchymalnych komórek macierzystych daje obecnie możliwość zastosowania ich jako nośników leków przeciwnowotworowych, co wykorzystała również praktycznie w swojej pracy Doktorantka.

Na wyróżnienie zasługuje zaplanowany i wykonany przez Panią mgr inż. Agatę Kawulok panel eksperymentalny części biologicznej świadczący o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do pracy laboratoryjnej. Należy podkreślić, że przeprowadzone badania *in vitro* dostarczyły cennych informacji dotyczących możliwości zastosowania połączenia gemcytabiny z NLPZ w terapii raka trzustki. Doktorantka wykazała, że zastosowanie kombinacji gemcytabiny z NLPZ jak również wykorzystanie mezenchymalnych komórek macierzystych i ich metabolitów prowadzi do zmniejszenia przeżycia badanych komórek raka trzustki w porównaniu z użyciem samej gemcytabiny. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania apoptozy, nekrozy i cyklu komórkowego sugerują, że zastosowane w badaniach NLPZ zwiększają wrażliwość komórek raka trzustki na działanie gemcytabiny, przy czym efekt ten jest zróżnicowany i zależny od badanej linii komórkowej. Najsilniejszy efekt cytotoksyczny na badane komórki raka trzustki Doktorantka zaobserwowała dla połączenia gemcytabina-flurbiprofen. Pani mgr inż. Agata Kawulok w swoich badaniach potwierdziła również wysoką oporność komórek BM-MSK na działanie gemcytabiny i NLPZ. Założone na wstępie cele badawcze zostały osiągnięte. Uzyskane wyniki badań właściwie przedyskutowano w oparciu o prace naukowe dotyczące podobnej tematyki. Wyniki przeprowadzonych badań zostały częściowo przedstawione w artykule International Journal of Molecular Sciences (2025, 26, 6212, doi:10.3390/ijms26136212), w którym Doktorantka jest pierwszym autorem. Pani mgr inż. Agata Kawulok przeprowadziła również szereg syntez chemicznych prowadzących do otrzymania koniugatów cytydyny i gemcytabiny z NLPZ. Struktury chemiczne otrzymanych koniugatów postanowiono scharakteryzować w oparciu o analizę widm ^1H -NMR i ^{13}C -NMR. Niestety niektóre widma ^1H -NMR wymagają przypisania odpowiedniej ilości atomów wodoru ich sygnałom. W przypadku widm ^{13}C -NMR należy sprawdzić nie tylko ilość sygnałów ale również sam zapis widma. W tym miejscu nasuwa mi się pytanie, czy dla otrzymanych koniugatów określono temperatury topnienia i planuje się wykonanie widm masowych.

Rozprawa doktorska została przygotowana starannie. Oprawa graficzna pracy pełni funkcje informacyjną i pomogła w przedstawieniu złożonych procesów zachodzących na poziomie komórkowym. Występuje niewiele błędów terminologicznych, które nie umniejszają wartości merytorycznej dysertacji. Z racji obowiązku recenzenta muszę wskazać drobne uchybienia:

-str. 16 „poliglikolu etylowego” powinno być „poli(glikolu etylenowego)”

- str. 29 rysunek 6 „, pochodnej gemcytabiny” powinno być „, pochodnej cytydyny”
- str. 29 „, środki koniugujące/środki sieciujące” proponuję „, środki kondensujące”
- str. 75 „, pracowano na lodzie” proponuję „, ochłodzono w łaźni lodowej”
- str. 100-101 podane nazwy chlorków kwasowych NLPZ wymagają korekty.

Pani mgr inż. Agata Kawulok jest współautorem siedmiu artykułów naukowych opublikowanych w latach 2020-2025 o sumarycznym współczynniku oddziaływania IF = 32,6 i liczbie punktów MEiN = 830 oraz jednego rozdziału w monografii. W dwóch publikacjach Autorka rozprawy jest pierwszym autorem, co świadczy o Jej wkładzie w wykonywanie badań. Wyniki swoich prac badawczych Doktorantka prezentowała na 23 konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym (9 wystąpień ustnych, 18 prezentacji posterowych). W ramach konferencji InterTechDoc 2024 w Ustroniu (20-21.05. 2024) i VII Śląskich Spotkań Naukowych w Gliwicach 2020 (29-30.05.2020) otrzymała pierwszą nagrodę za najlepsze doniesienia badawcze. Doktorantka jest współautorem patentu (nr. 247380) pt. „Symetryczne tioamidy kwasu tereftalowego oraz sposoby ich wytwarzania”.

Ważnym osiągnięciem w dorobku naukowym Pani mgr inż. Agaty Kawulok było kierownictwo grantu ExCELLent ufundowanego przez Polski Bank Komórek Macierzystych S.A. Dodatkowo Doktorantka była wykonawcą w trzech grantach w tym dwóch finansowanych przez NCN. W trakcie realizacji pracy doktorskiej Pani mgr inż. Agata Kawulok odbyła kilka szkoleń i dwa staże naukowe. Była opiekunem naukowym pracy licencjackiej, pracy inżynierskiej oraz dwóch prac magisterskich. Należy podkreślić, że Doktorantka bardzo aktywnie uczestniczy w różnorodnych działaniach związanych z popularyzacją nauki.

W mojej opinii wybór tematyki rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Agaty Kawulok jest w pełni uzasadniony. Wyniki badań Doktorantki mają duże znaczenie poznawcze i poszerzają aktualny stan wiedzy dotyczący opracowania nowych kombinacji terapeutycznych mogących znaleźć zastosowanie w terapii raka trzustki.

Podsumowując, stwierdzam że przedłożona do recenzji praca doktorska Pani mgr inż. Agaty Kawulok pt. „Badanie aktywności przeciwnowotworowej nowych kombinacji terapeutycznych opartych na gemcytabinie i niesteroidowych lekach przeciwzapalnych z wykorzystaniem mezenchymalnych komórek macierzystych jako nośników” spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r., poz. 742 ze zm.). Wnoszę zatem do Komisji Interdyscyplinarnej do spraw stopni naukowych i stopni w zakresie sztuki Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Biorąc pod uwagę wkład i zaangażowanie Doktorantki w badania naukowe przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej, Jej dorobek naukowy oraz udział w kierowaniu grantem, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Prof. B. Benek