



Gdańsk, 18 września 2025

Prof. dr hab. Marta Struga
Przewodnicząca Rady Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Recenzja pracy doktorskiej mgr Pauliny Strzygi-Łach pt. „Badanie mechanizmów aktywności cytotoksycznej pochodnych tiomocznika”.

Praca doktorska mgr Pauliny Strzygi-Łach ma charakter zbioru publikacji zawierając opis wchodzącego w skład rozprawy i pozostałego dorobku naukowego, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, wstęp, założenia i cel pracy, kopie opublikowanych prac, podsumowanie i wnioski, piśmiennictwo, oświadczenia współautorów. Praca jest przygotowana bardzo starannie i przejrzysto, publikacje są spójne tematycznie i wynikają z konsekwentnej linii badawczej.

Rozprawę doktorską tworzą trzy publikacje:

Strzyga-Łach P, Chrzanowska A, Podsadni K, Bielenica A. Investigation of the mechanisms of cytotoxic activity of 1,3-Disubstituted thiourea derivatives. *Pharmaceuticals*. 2021, 28; 14(11).

Strzyga-Łach P, Kurpios-Piec D, Chrzanowska A, Szczepaniak J, Bielenica A. 1,3-Disubstituted thiourea derivatives: Promising candidates for medicinal applications with enhanced cytotoxic effects on cancer cells. *Eur J Pharmacol*. 2024, 14;982:176885.

Strzyga-Łach P, Chrzanowska A, Kiernożek-Kalińska E, Żyżyńska-Granica B, Podsadni K, Podsadni P, Bielenica A. Proapoptotic effects of halogenated bisphenylthiourea derivatives in cancer cells. *Arch Pharm*. 2023, 356(9).

Wszystkie publikacje to prace oryginalne opublikowane w bardzo dobrych czasopismach z pierwszego kwartyła, we wszystkich doktorantka jest pierwszą autorką, a w jednej również korespondencyjną. Podkreśla to jej kluczowy i większościowy wkład w wykonanie przedstawianych badań oraz ich przedstawienie w publikacjach.

Głównym zagadnieniem którego dotyczy praca doktorska jest ocena potencjału przeciwnowotworowego zróżnicowanych strukturalnie 1,3- dwupodstawionych pochodnych tiomocznika, zawierających elektroujemne podstawniki w końcowych pierścieniach fenylowych. Stanowi to element poszukiwań skutecznych terapeutyków w



opornych na leczenie nowotworach. W szczególności badania koncentrowały się na analizie cytotoksyczności w modelach komórkowych raka jelita grubego, prostaty i białaczek. Istotnym elementem pracy doktorskiej są badania mechanizmów cytotoksyczności badanych substancji oraz powiązań elementów struktury z działaniem.

Temat ten jest niezwykle ważny, gdyż pomimo rozwoju nowych terapii przeciwnowotworowych takich jak immunoterapie, terapie celowane, radio i radiofarmakoterpie, celowane dostarczanie leków, interferencje metaboliczne czy celujące w mikrośrodowisko guza klasyczna farmakoterapia oparta o cytotoksyczność pozostaje fundamentem skutecznego leczenia nowotworów na dzisiaj. Na pewno nie zostanie w pełni zastąpiona w przyszłości stając się raczej kluczowym elementem terapii skojarzonych. Dlatego badania przedstawione w pracy doktorskiej są niezwykle ważne i mają dużą szansę na przełożenie się na praktyczne zastosowania.

Metodyka badań obejmowała hodowle komórkowe, w tym hodowle sferoidów 3D, ocenę apoptozy i nekrozy w komórkach testami MTT, testem Anneksynowym, oceną aktywności kaspazy 3 i 7, analizę stężenia IL-6 testem ELISA, ocenę tworzenia wolnych rodników testem spektrofлуorymetrycznym oraz prowadzoną we współpracy analizę cyklu komórkowego z zastosowaniem cytometrii przepływowej czy analizy metabolomicznej z zastosowaniem LC/MS. Kluczowym elementem badań była synteza związków chemicznych, ich oczyszczanie oraz analiza czystości z zastosowaniem HPLC która była również prowadzona we współpracy z innymi badaczami.

Spektrum zastosowanej metodyki opanowanej przez Doktorantkę obejmuje pełen zakres umożliwiający w przyszłości kompetentne prowadzenie badań od syntezy związku chemicznego do kompleksowej analizy jego efektów biologicznych w modelach komórkowych. Kluczowy wkład Doktorantki w powstanie publikacji potwierdza kompetencje w zakresie analizy, prezentacji, interpretacji i dyskusji danych badawczych.

W ramach prowadzonych w ramach pracy doktorskiej badań oceniono cytotoksyczność 28 nowych pochodnych tiomocznika zarówno wobec modeli komórkowych guzów litych, nowotworów hematologicznych oraz komórek nienowotworowych (keratynocytów). Siedem związków wykazało wysoką cytotoksyczność wobec ludzkich komórek nowotworowych jelita grubego oraz prostaty i linii komórkowej białaczki podczas gdy toksyczność wobec prawidłowych komórek była mniejsza. Działania najbardziej aktywnych substancji skutkujące redukcją liczby komórek nowotworowych i ich przeżywalności wynikały z aktywności pro-apoptotycznej (indukcji kaspaz 3/7), obniżonego wydzielania IL-6, aktywacji produkcji RFT, a także hamowania uwalniania NF- κ B i VEGF. Wykazano również zmiany w metabolizmie lipidów i pirymidyn. Niektóre z



badanych substancji wywołały zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2, co może świadczyć o uszkodzeniach DNA lub zaburzeniach w formowaniu wrzeciona podziałowego.

Podsumowując, przeprowadzone badania wykazały, że wybrane pochodne tiomocznika charakteryzują się silnym i selektywnym działaniem cytotoksycznym wobec różnych linii komórek nowotworowych, przewyższającym w niektórych przypadkach skuteczność referencyjnej cisplatyny. Mechanizmy molekularne leżące u podstaw ich aktywności obejmowały wiele z kluczowych mechanizmów działań przeciwnowotworowych takich jak indukcję apoptozy, zahamowanie szlaków proliferacyjnych i angiogenezy, a także modulację odpowiedzi zapalnej i metabolizmu komórkowego. Szczególnie obiecujące okazały się pochodne dihalogenofenylove, które wykazały wielokierunkowe działanie przeciwnowotworowe oraz korzystny profil bezpieczeństwa.

Uzyskane wyniki stanowią solidną podstawę do dalszych badań nad rozwojem tych związków jako potencjalnych kandydatów do terapii nowotworowej w tym przede wszystkim przeprowadzenie badań *in vivo*.

Publikacja wyników w bardzo dobrych, recenzowanych czasopismach gwarantuje jakość uzyskanych danych i ich poprawną interpretację. Pytania które mogą przedstawić dotyczą przyszłych badań i przewidywania działania *in vivo*.

Czy są przesłanki jak może wyglądać dystrybucja badanych związków, w tym szczególnie przejście bariery krew-mózg?

Jak może wyglądać metabolizm i wydalanie tych substancji z organizmu?

Jakie są perspektywy opracowania systemów celowanego dostarczania leku dla badanych substancji?

Czy na bazie opracowanych substancji jest możliwe zsyntetyzowanie prekursorów aktywowanych w mikrośrodku guza?

Jakie są przewidywane interakcje z innymi lekami przeciwnowotworowymi np. z badaną cisplatyną?

Ponieważ w bardzo ograniczonym zakresie zbadano cytotoksyczność w odniesieniu nienowotworowych komórek, to czy istnieje ryzyko, że efekty cytotoksyczne np. w komórkach śródbłonna, kardiomiocytach, hepatocytach mogą być silniejsze? Jest to ważne gdyż ograniczenie powikłań chemioterapii nowotworów stanowi fundamentalne współczesne wyzwanie.



Praca doktorska mgr Pauliny Strzygi-Łach stanowi znaczący wkład w poszukiwanie nowych terapii chorób nowotworowych, wyznaczając dalsze kierunki takich badań. Oceniana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki medyczne Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Pauliny Strzygi-Łach do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wysoką wartość naukową prowadzonych badań obejmujących nie tylko końcowe efekty lecz również ich mechanizmy, perspektywę zastosowań praktycznych oraz ich publikację w bardzo dobrych czasopismach wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Z poważaniem
KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Biochemii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
prof. dr hab. Ryszard Tomasz Smoleński