



Łódź, dnia 18 05 2022

prof. dr hab. n. med. Agnieszka Piastowska-Ciesielska

Zakład Hodowli Komórkowych i Analiz Genomowych
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-752 Łódź, ul. Żeligowskiego 7/9

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr Kamili Soboskiej pt. **”Neuromedyna U (NMU) jako regulator aktywności komórek mikrośrodowiska raka jelita grubego”**, wykonanej pod kierunkiem dr hab. Joanny Bonceli (promotor) i dr Patrycji Przygóckiej (promotor pomocniczy) w Instytucie Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk.

Podstawa formalna recenzji

Podstawę formalną opracowania recenzji stanowi decyzja Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne podjętej w dniu 8 marca 2022 roku.

Ogólna charakterystyka i układ przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska przedstawiona do recenzji jest pracą o typowym układzie monografii. Liczy 111 stron wydruku komputerowego a jej struktura jest czytelna, podział na poszczególne części prawidłowy i logiczny. Zrozumienie przedstawionych treści ułatwiają przejrzyste tabele i liczne staranne ryciny.

Praca rozpoczyna się od obszernego **wstępu**, w którego kolejnych podrozdziałach doktorantka omawia aktualny stan wiedzy dotyczący: raka jelita grubego, mikrośrodowiska w jakim dochodzi do powstania i rozwoju nowotworów, neuromedynie U i jej receptorom oraz wzajemnemu oddziaływaniu pomiędzy neuromedyną U a mikrośrodowiskiem nowotworu.

Cel pracy –jak wskazała autorka głównym celem pracy było potwierdzenie hipotezy, „że MNU wydzielana przez komórki nowotworowe reguluje aktywność wybranych komórek niszy w taki sposób, aby sprzyjać rozwojowi RJG”. O ile tak sformułowany cel główny nie wzbudza wątpliwości to zdaniem recenzenta forma przedstawienia celów szczegółowy jest nieodpowiednia. Powinny one być przedstawione jako kroki dzięki, którym autorka osiągnie cel główny a nie jako czynności które już zrobiła.

Rozdział „**Materialy i Metody**” obejmuje szczegółowe opisy wykorzystanych narzędzi badawczych, łącznie to 25 podrozdziałów z których 23 precyzyjnie opisują wykorzystane techniki badawcze. Autorka szczegółowo opisuje wszystkie wykorzystane odczynniki, stosowane bufony i roztwory. Poszczególne podrozdziały opisują m.in. wykorzystywane linie komórkowe, metody ich hodowli, proces transfekcji i selekcji klonów, izolację monocytów ich różnicowanie czy polaryzację makrofagów. Zdaniem Recenzenta najistotniejszą częścią każdej rozprawy jest jej część badawcza, a ta jest mocną stroną przedstawionej do oceny rozprawy. Bezspornie, jeszcze raz należy to podkreślić, że tak bogaty i zróżnicowany panel zastosowanych metod badawczych pozwolił na wielowątkowy wgląd w patomechanizm zjawisk na poziomie interakcji międzykomórkowych. Należy też podkreślić, że tak zaplanowana metodyka badań wymagała ze strony Doktorantki dużego osobistego zaangażowania w opanowanie zastosowanych technik badawczych oraz niezbędnego czasu na ich doskonalenie w toku realizacji założonych celów. Świadczy to również, o wszechstronnym technicznym przygotowaniu Doktorantki do pracy laboratoryjnej.

Rozdział „**Wyniki**” podzielono na podrozdziały, które pokrywają się z celami szczegółowymi jakie wyznaczyła sobie Doktorantka. Układ tego rozdziału jest niewątpliwie chronologicznym odzwierciedleniem kolejnych etapów realizacji badań dzięki czemu czytelnik jest płynnie prowadzony przez cały proces badawczy. Liczne ryciny również ułatwiają śledzenie uzyskanych wyników co jest istotne z uwagi na znaczną obszerność tej części rozprawy.

Dyskusja –napisana dość syntetycznym językiem przez co może wydawać się dość skromna przy tak znaczącej ilości wyników. Jednak sposób jej przeprowadzanie jest potwierdzeniem dojrzałości naukowej Doktorantki.

Wnioski – zdaniem recenzenta wnioski przedstawione w takiej formie nie do końca odzwierciedlają cel główny pracy.

Zasadniczą część pracy wieńczy **spis literatury**, obejmujący 86 pozycje anglojęzycznych z których większość ukazał się w ostatnim dziesięcioleciu. Ponadto, w pracy zamieszczono streszczenie w językach polskim i angielskim, oraz spis treści, wykaz skrótów.

Jako źródło finansowania badań wskazano projekt „Neuromedyna U jako nowy potencjalny regulator przerzutowania w raku jelita grubego i odbytnicy” (2016/22/E/NZ3/00341)- kierownik dr Patrycja Przygodzka.

Konstrukcja pracy jest prawidłowa i spełnia wszystkie wymagania merytoryczne i redakcyjne stawiane tego typu dysertacjom.

Oryginalność, aktualność i przydatność podjętego problemu naukowego

Rak jelita grubego (RJG) jest trzecim najczęściej diagnozowanym na świecie typem nowotworu oraz drugą co do częstości przyczyną śmierci na świecie spowodowaną chorobą nowotworową. RJG przebiega skrycie, a jego pierwsze objawy kliniczne są często lekceważone gdyż należą do nich zazwyczaj nieokreślone bóle brzucha, osłabienie, wzdęcia i zmiana rytmu wypróżnień. Konsekwencją jest to, że pacjenci zaczynają się leczyć niejednokrotnie zbyt późno. Czas od pojawienia się objawów aż do rozpoznania raka może przekroczyć nawet 2 lat co ma istotne znaczenie, ponieważ wczesne wykrycie choroby poprawia wyniki leczenia. Standardową metodą leczenia jest chirurgiczne usunięcie guza, po którym dokonywana jest ocena stadium choroby i zapada decyzja o kolejnych etapach leczenia. Problemem jest ograniczona dostępność markerów, które pozwalałyby jednoznacznie ocenić kierunek dalszego leczenia. Zasadne są więc badania, których celem jest weryfikacja możliwości wykorzystania jako markerów białek takich jak neuromedyny U (NMU). NMU to małe białko sekrecyjne produkowane w formie prekursora. Jego receptory, NMUR1 i NMUR2, należą do rodziny związanej z białkami G (GPCR) i występują na wielu typach komórek, nie tylko nowotworowych, ale również takich jak makrofagi i komórki śródbłonna, które znajdują się często w bezpośrednim sąsiedztwie guza. Interesujące są więc nie tylko doniesienia na temat znaczenia nadekspresji NMU w samych komórkach nowotworowych, ale również na temat aktywacji szlaków sygnałowych w komórkach mikrośrodowiska wpływających na regulację procesu nowotworzenia.

Obecnie wiemy, że kluczowym etapem nowotworzenia w generowaniu zwykle nieodwracalnych zmian w jelicie grubym są zjawiska immunologiczne. Prowadzą one do transformacji komórek efektorowych układu odpornościowego gospodarza w tym makrofagów do form o charakterze immunosupresyjnym promującym niekontrolowaną progresję nowotworu. Makrofagi M2 obecne

w tzw. froncie inwazyjnym współdziałając aktywnie z nowotworem wytwarzają w jego mikrośrodowisku liczne aktywne substancje (chemokiny, cytokiny, proteazy, czynniki wzrostowe), które mogą stymulować angiogenezę, intensywny wzrost guza nowotorowego, ułatwiać jego tzw. przerzutowanie poprzedzone przejściem epitelialno-mezenchymalnym (EMT). Tym samym cel jakim była weryfikacja hipotezy, że MNU wydzielane przez komórki nowotworowe reguluje aktywność wybranych komórek niszy w taki sposób, aby sprzyjał rozwojowi RJG, jest zasadny i stanowi innowacyjne podejście do omawianego zagadnienia.

Z obowiązku Recenzenta należy jednak zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia, dotyczą one sposobu zdefiniowania celów pracy jak i przedstawienia wniosków końcowych. Poza tym, nasuwa się pytanie natury bardziej ogólnej i dającej asumpt do szerszej dyskusji, a mianowicie dlaczego Doktorantka zdecydowała się na stosowanie nie inaktywowanych surowic z wyjątkiem dla linii HCT116 i HCT15?

Podsumowanie

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską oceniam wysoko, jest to starannie przeprowadzone żmudne i czasochłonne badanie. Rozprawa jest napisana w sposób czytelny a koncepcja i sposób zaprojektowania badań, oraz ocena uzyskanych wyników nie budzą wątpliwości. Jego zakres i metodyka pozwalają na wyciągnięcie aktualnych wniosków w zakresie zmian w komórkach mikrośrodowiska pod wpływem MNU.

Wnioski końcowe

Przedstawiona do recenzji rozprawa stoi na bardzo wysokim poziomie naukowym. Uzyskane wyniki stanowią cenny wkład do dotychczasowej wiedzy na temat roli Neuromedyny U jako potencjalnego regulatora przerzutowania w raku jelita grubego. Doktorantka wykazała bardzo dobre opanowanie warsztatu badawczego, dużą sprawność w interpretacji rzetelnie udokumentowanych wyników. Zastosowane metody badawcze odpowiadają standardom w tego typu badaniach i nie budzą zastrzeżeń.



Stwierdzam, że rozprawa spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. **W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć wniosek o dopuszczenie Pani Kamili Soboskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.**



Elektronicznie
podpisany przez
Agnieszka Wanda
Piastowska-Ciesielska
Data: 2022.05.26
12:44:16 +02'00'

KIEROWNIK

Zakładu Hodowli Komórkowych i Analiz Genomowych
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Agnieszka Wanda Piastowska-Ciesielska
prof. dr hab. Agnieszka Piastowska-Ciesielska