



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Centrum Doskonałości : IMMUNE  
Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA  
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71  
www.iitd.pan.wroc.pl

Wrocław, 2021-01-22

Prof. dr hab. Joanna Wietrzyk  
Zakład Onkologii Doświadczalnej  
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN  
Wrocław

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Piaseckiej  
pt. *Wpływ czynników prozapalnych mikrośrodowiska guza na indukcję fenotypu  
inwazyjnego komórek nabłonkowych gruczołu piersiowego*  
zrealizowanej pod opieką promotora  
dr hab. n. med. Hanny Romańskiej-Knight, prof. UMED w Łodzi**

Oceniana rozprawa doktorska dotyczy niezwykle istotnego zjawiska, jakim jest progresja przewodowych raków piersi *in situ* (DCIS) do raków inwazyjnych (IDC), którego mechanizmy nie zostały dotąd w pełni wyjaśnione. Co istotne, mgr Dominika Piasecka w swoich badaniach skupiła się nie tylko na cechach samych komórek nowotworowych, które miałyby promować inwazyjny charakter tych nowotworów, ale także uwzględniła wpływ cytokin obecnych w mikrośrodowisku guza na ten proces. Ze względu na ważność tej tematyki, można uznać podjęcie badań poznawczych przez Doktorantkę za aktualne i odpowiednie jako przedmiot rozprawy doktorskiej.

Rozprawa doktorska przedstawiona została na 133 numerowanych stronach. Opracowanie ma układ tradycyjny ze wstępem, celem pracy, materiałem i metodami, wynikami, podsumowaniem wyników, dyskusją, wnioskami oraz piśmiennictwem. Na początku pracy umieszczono streszczenie w językach polskim i angielskim, spis treści i wykaz stosowanych skrótów. W rozprawie powołano się na liczne pozycje starannie dobranych prac naukowych pochodzących z pism o zasięgu międzynarodowym.

W rozdziale pierwszym, stanowiącym wstęp rozprawy, Autorka sprawnie opisuje zagadnienia dotyczące przewodowych raków piersi *in situ*, ich epidemiologię i patogenezę. Następnie przechodzi do podsumowania wiedzy naukowej dotyczącej progresji tych nowotworów do inwazyjnych przewodowych raków piersi, nie pomijając zagadnień natury bardziej ogólnej, jak sam proces kancerogenezy i dalszych etapów rozwoju raka. Ta część wstępu w sposób wnikliwy przedstawia dotychczasowe dane, jakie przyniosła dotąd nauka w drodze do poznania tajników rządzących procesem będącym przedmiotem zainteresowania Doktorantki. Doktorantka przedstawia także trzy różne modele progresji do raków inwazyjnych



NF- $\kappa$ B p65 oraz przy użyciu techniki immunofluorescencyjnej na jego lokalizację jądrową. Oceniała także ekspresję COX2, HIF1 $\alpha$  oraz CAIX. W tych badaniach wykorzystwała także inhibitory poszczególnych czynników, jak lapatinib (HER2), magnolol (NF- $\kappa$ B) oraz celecoxib (COX2). W ten sposób wykazała, że IL-1 $\beta$  i TNF $\alpha$  aktywują NF- $\kappa$ B i COX2 i zwiększają ekspresję HIF1 $\alpha$  tylko w komórkach HER2 $^{-}$ . Autorka nie poprzestała jednak na tych obserwacjach i kontynuowała badania w celu sprawdzenia powiązań pomiędzy HER2 a HIF1 $\alpha$  w badanym modelu doświadczalnym. W tym celu użyła podwójnych transduktantów HER2 $^{+}$ /HIF1 $\alpha$  $^{+}$  i potwierdziła swoje wcześniejsze obserwacje.

Dodatkowo swoje obserwacje poczynione przy zastosowaniu rekombinowanych cytokin, autorka potwierdziła wykorzystując supernatanty z hodowli komórek linii THP1 różnicowanych do fenotypu makrofagów M1 i M2. Autorka wykorzystwała tylko supernatant z hodowli różnicowanych do M1, gdyż w tych pożywkach znalazła wysokie stężenia badanych cytokin (IL-1 $\beta$  i TNF $\alpha$ ). Z jednej strony zrozumiałe jest takie podejście Doktorantki i w pełni wyczerpujące potrzeby niniejszej rozprawy doktorskiej, jednak chciałam zapytać, czy Doktorantka bierze pod uwagę ocenę wpływu supernatantów z hodowli M2 w dalszych badaniach?

Na koniec mgr Dominika Piasecka przedstawiła analizę danych klinicznych w postaci oceny nacieku komórek układu odpornościowego w tkankach nowotworowych od pacjentek z DCIS i korelacji z różnymi danymi kliniko-patologicznymi. Jest to cenne uzupełnienie badań przeprowadzonych w systemach *in vitro*.

Podsumowując tę część rozprawy, podkreślam olbrzymi nakład pracy poniesiony przez Doktorantkę, który niezbędny był do wykonania badań tak wieloma technikami przy użyciu wielu różnych modeli komórkowych. Świadczy to o niezwyklej biegłości Doktorantki w technikach biologii molekularnej i biologii komórki oraz o Jej niezwykłym zaangażowaniu w tą pracę.

Pomiędzy opisem wyników, a ich Dyskusją Autorka zaprezentowała syntetyczne podsumowanie wyników, co z pewnością jest pomocne dla usystematyzowania tego obszernego zakresu badań.

Bardzo dobrze oceniam sposób przedyskutowania wyników badań na tle szerokiego piśmiennictwa. Autorka potrafi krytycznie odnieść się do uzyskanych wyników, łącznie z analizą wad i zalet samego modelu doświadczalnego, który zastosowała. Jasno pokazuje w Dyskusji elementy nowatorskie swojego podejścia do rozwiązywanego problemu naukowego, wskazuje także dalsze kierunki badań, czy konieczność potwierdzenia niektórych obserwacji w dalszych badaniach np. *in vivo*. Przedstawione na zakończenie rozprawy wnioski są trafne, dobrze skonstruowane i oparte o uzyskane wyniki badań.

Ogólnie rozprawę przygotowano bardzo starannie, znalazłam tylko nieliczne błędy literowe, których ze względu na znikomą liczbę nie będę wymieniać. Chcę jedynie zwrócić uwagę na 2 prawdopodobne pomyłki: na stronie 28 Autorka określiła komórki CD4 $^{+}$ , jako limfocyty T regulatorowe, mając na myśli pomocnicze; na stronie 29 już wszystko jest



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA  
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71  
www.iitd.pan.wroc.pl

samym zwracam się do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Dominiki Piaseckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wskazując na wysoką wartość merytoryczną uzyskanych wyników i wysoką aktywność publikacyjną Doktorantki składam wniosek o wyróżnienie rozprawy.

**Prof. dr hab. Joanna Wietrzyk**  
Kierownik Laboratorium  
Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej