



Prof. dr hab. Edyta Reszka
Kierownik Zakładu Badań Translacyjnych
Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

OCENA

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Doroty Anusewicz pt.
„Molekularne profile raka nerki i płuc związane ze wznową i progresją choroby ze szczególnym
uwzględnieniem szlaku Notch”,**

**wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Andrzeja K. Bednarka w Zakładzie Kancerogenezy
Molekularnej, Katedra Medycyny Molekularnej i Biotechnologii, Oddział Nauk Biomedycznych,
Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi**

Zgodnie z uchwałą Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z dnia 8 czerwca 2021 r., powołującą mnie do pełnienia obowiązków recenzenta w przewodzie doktorskim Pani mgr inż. Doroty Anusewicz, przedkładam recenzję rozprawy doktorskiej przygotowanej pod opieką naukową Pana prof. dr hab. n. med. Andrzeja Bednarka. Zgodnie z art. 13. ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 z późniejszymi zmianami), przygotowana przez Doktorantkę rozprawa doktorska w pełni odpowiada kryteriom wynikającym z ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym, tj.

1. rozprawa doktorska Pani Doroty Anusewicz pt. „Molekularne profile raka nerki i płuc związane ze wznową i progresją choroby ze szczególnym uwzględnieniem szlaku Notch” ma formę spójnego tematycznie zbioru sześciu publikacji oryginalnych, opublikowanych w czasopiśmie naukowych, określonych przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki oraz stanowi samodzielną i wyodrębnioną część pracy zbiorowej, którą stanowią trzy oryginalne publikacje;
2. rozprawa doktorska Pani Doroty Anusewicz stanowi oryginalne rozwiązanie przez Doktorantkę problemu naukowego;
3. w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej Doktorantka wykazała ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauki medycznej z zakresu bioinformatyki, biologii molekularnej, genetyki oraz onkologii;
4. lektura dysertacji potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktorantkę.

W uzasadnieniu tych ocen przedstawiam następujące uwagi i spostrzeżenia merytoryczne dotyczące recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Choroby nowotworowe stanowią jedną z najczęstszych przyczyn zgonów Polaków. Liczba zachorowań na nowotwory jest wypadkową zarówno procesu starzenia się społeczeństwa, ale też narażenia na czynniki ryzyka związane ze zmieniającym się dynamicznie stylem życia. W Polsce na przestrzeni 30 lat liczba zachorowań na nowotwory złośliwe wzrosła ponad dwukrotnie i obecnie choroby te są drugą najczęstszą przyczyną zgonów po chorobach układu krążenia, powodując 27%





zgonów mężczyzn oraz 24% zgonów kobiet. Prognozy epidemiologiczne wskazują, że w ciągu najbliższych 10 lat liczba pacjentów onkologicznych w Polsce zwiększy się o 28%. Mając na względzie wynikające z nich skutki w postaci dużej umieralności oraz poważne konsekwencje społeczno-ekonomiczne, Sejm Rzeczypospolitej Polskiej uchwalił w 2019 r. ustawę o Narodowej Strategii Onkologicznej, z siedmioma celami strategicznym. Siódmy z nich to rozwój badań naukowych mających na celu poprawę i wzrost efektywności oraz innowacyjności leczenia chorób nowotworowych. Polska bowiem, na tle Unii Europejskiej, jest krajem o wciąż relatywnie niskiej zachorowalności na nowotwory złośliwe, ale wysokiej umieralności z tego powodu.

Szczególnie istotna staje się więc identyfikacja kluczowych czynników determinujących efektywność terapii nowotworowej, maksymalnie wydłużającej czas wolny od nawrotu i progresji choroby. Poszukiwanie nowych celów molekularnych może stanowić podstawę ukierunkowanej chemio- bądź immunoterapii jako istotny priorytet badań naukowych w skali kraju i świata. W tym względzie zwrócenie uwagi przez Doktorantkę na molekularne profile z uwzględnieniem konserwatywnego szlaku sygnałowego Notch w raku płuca, nerki, piersi, jajnika i prostaty, związane z nabyciem przez komórki rakowe potencjału migracyjnego i zwiększonej inwazyjności, potwierdzają słuszność i znaczenie podjętego przez Doktorantkę tematu badawczego.

Dokonując oceny przedstawionej rozprawy doktorskiej, należy podkreślić aktualność tematu, wpisującego się w krajowy i światowy trend prowadzonych badań. Nowatorskie ujęcie wynika z 1) wykorzystania danych transkryptomicznych zdeponowanych w bazie projektu Narodowego Instytutu Raka przy Narodowym Instytucie Zdrowia (NCI-NIH): The Cancer Genome Atlas (TCGA) oraz 2) połączenia wiedzy i doświadczenia w wielu dyscyplinach naukowych (bioinformatyka, biologia molekularna, genetyka, onkologia). Na uwagę zasługuje zaplanowanie, jak również szczegółowy opis metod badawczych z zakresu bioinformatyki, co według mnie zwiększa poziom trudności w przygotowaniu opisu tej części dysertacji, szczególnie w języku polskim. Wszystkie opisane metody są dobrane adekwatnie do prowadzonych analiz i zgodne ze sztuką prowadzenia analiz bioinformatycznych i molekularnych w poszczególnych etapach, co gwarantuje rzetelne i wiarygodne wnioskowanie. Co należy podkreślić, to właśnie zastosowane narzędzia bioinformatyczne oraz prawidłowa i zasadna umiejętność ich wykorzystania umożliwiły Doktorantce podjęcie się tematu pracy doktorskiej.

Moja recenzja zawiera ocenę samodzielnej i wyodrębnionej części pracy zbiorowej, która dotyczy molekularne mechanizmów kancerogenezy w płucu i nerce, ze szczególnym uwzględnieniem szlaku Notch. Indywidualny wkład Doktorantki w powstanie rozprawy doktorskiej dotyczył opracowania koncepcji, wykonywania części eksperymentalnej, opracowania i interpretacji wyników.

W mojej ocenie, powierzona mi rola recenzenta dysertacji doktorskiej jest wyłącznie formalna, z tego powodu, że na rozprawę składa się spójny tematycznie zbiór 6 publikacji oryginalnych z sumarycznym IF 25.603 i punktacją MEiN 450 pkt., z czego 3 stanowią podstawę mojej oceny (IF 12.468, MEiN 310 pkt.). Wszystkie publikacje zostały poddane wcześniej rygorystycznej procedurze recenzowania podczas procesu publikacji w renomowanych i punktowanych czasopismach specjalistycznych o zasięgu międzynarodowym. Ponadto należy zwrócić uwagę, że przeprowadzone przez Doktorantkę badania były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektów PRELUDIUM oraz ze środków Uniwersytetu Medycznego w Łodzi na działalność statutową. Zatem badania były poprzedzone wnioskiem zawierającym projekt, harmonogram i kosztorys badań, który również podlegał ocenie formalnej i merytorycznej dokonanej przez ekspertów w określonych dziedzinach.





Dysertację przygotowano bardzo starannie pod względem edytorskim i opisano w sposób bardzo jasny. Praca zawiera poszczególne części: streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, spis publikacji stanowiących podstawę pracy doktorskiej, wstęp, hipoteza badawcza i cel pracy, materiał i metody, wyniki, wnioski, finansowanie oraz piśmiennictwo uzupełniające. Dysertacja oprócz kopii sześciu publikacji stanowiących spójny tematycznie zbiór, zawiera oświadczenia współautorów, oświadczenia ws. zgody Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badania oraz oświadczenie autora o prawie autorskim. Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych liczy łącznie z piśmiennictwem uzupełniającym i załącznikami 169 stron.

We wstępie Doktorantka w sposób zwięzły opisuje mechanizm molekularnego szlaku sygnałowego Notch i jego znaczenie w morfogenezie płuca i nerki oraz w powstawaniu nowotworów tych lokalizacji. Wskazuje również na istotną rolę szlaku Notch w zapewnieniu homeostazy komórek. Wiadomo bowiem, że z jednej strony szlak Notch aktywuje procesy związane z przeżyciem komórek i przyspiesza ich proliferację, a z drugiej, zatrzymuje cykl komórkowy i indukuje różnicowanie komórki. Doktorantka opisuje również aspekt epidemiologiczny i kliniczny i podział na typy histologiczne raka płuca i nerki. Ponadto Doktorantka opisuje inne szlaki sygnałowe ErbB, Hedgehog i Wnt. Część ta potwierdza bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Doktorantki do prowadzonych badań.

W części Materiały i metody Pani Dorota Anusewicz opisuje publiczne bazy, z których zasobów korzystała w analizie genów szlaku sygnałowego Notch i genów potencjalnie modulowanych przez ten szlak. Poczynając od bazy TCGA z danymi transkryptomocnymi wraz z danymi demograficznymi i klinicznymi od 888 pacjentów z różnymi typami histologicznymi raka nerki (rak chromofobowy, KICH - 66, rak jasnokomórkowy, KIRC - 533, rak brodawkowaty, KIRP - 289) oraz od 1014 pacjentów z różnymi typami histopatologicznymi raka płuca (gruczolakorak, LUAD - 515, rak płaskonabłonkowy LUSC - 499), Doktorantka wykorzystywała również dane z bazy Kyoto Encyclopedia for Genes and Genomes (KEGG) oraz Gene Transcription Regulation Database (GTRD).

Wyniki zostały zaprezentowane jako podsumowanie rezultatów opublikowanych w poszczególnych trzech oryginalnych publikacjach składających się na cykl z uwzględnieniem kolejności poszczególnych konsekwentnie realizowanych celów pracy. Dzięki takiemu uporządkowaniu recenzent nie ma najmniejszego problemu połączenia pracy z celem i wynikiem. Doktorantka założyła hipotezę badawczą wskazującą, że szlak sygnałowy Notch istotnie wpływa na progresję i ryzyko wznowy wybranych nowotworów płuca i nerki. Hipotezę badawczą zrealizowała na podstawie poszczególnych czterech celów badawczych wykonując badania trzech typów histologicznych raka nerki i dwóch typów histologicznych raka płuca, poprzez zastosowanie odpowiednich narzędzi bioinformatycznych. W ten sposób Doktorantka przedstawiła adekwatne wnioski, gdzie wykazała 1) istotną rolę ekspresji genów szlaku Notch w patomechanizmie raka płuca i nerki; 2) odmienny wpływ zaburzenia ekspresji genów ścieżki Notch przyczynia się do wznowy i w konsekwencji do odmiennej prognozy przeżycia wolnego od choroby w każdym z 5 typów histologicznych raka; 3) geny szlaku Notch mogą stanowić oddzielne zestawy potencjalnych markerów prognostycznych dla jednokomórkowego, brodawkowego i chromofobowego raka nerki, oraz dla gruczolakoraka płuca oraz płaskonabłonkowego raka płuca; 4) geny ścieżki Notch modulują ekspresję genów docelowych uczestniczących w procesach biologicznych, w tym w procesie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT), adhezji, apoptozie, proliferacji, co w efekcie może prowadzić do progresji choroby; 5) ścieżki Hedgehog, Wnt oraz ErbB, bok szlaku Notch mają istotny wpływ na różnicowanie podtypów raka płuca, co może świadczyć o sieci powiązań między elementami tych szlaków.





Pani mgr inż. Dorota Anusewicz wykazała się umiejętnością prowadzenia dyskusji naukowej w sposób bardzo wnikliwy i bazujący na dużej wiedzy z zakresu molekularnych podstaw kancerogenezy, metod bioinformatycznych oraz wyciągania ze swoich badań kluczowych wniosków. Należy w tym miejscu podkreślić umiejętność Doktorantki w wyważonym i rzeczowym przedstawieniu wniosków, co nie jest sprawą łatwą w przypadku przeprowadzenia tak kompleksowych analiz in silico. Chciałabym jednak uzupełnić wnioski o dodatkową konkluzję, która nie znalazła się w dysertacji, a którą Doktorantka uwzględniła w swoich publikacjach. Zidentyfikowane geny szlaku Notch i geny z nim związane, mogą stanowić nowe cele molekularne w terapii nowotworowej.

Rozprawa doktorska Pani Doroty Anusewicz wskazuje, że Doktorantka była bardzo dobrze merytorycznie przygotowana do podjęcia badań naukowych dotyczących trudnego problemu badań molekularnych z wykorzystaniem szerokiego zakresu metod bioinformatycznych, w raku płuca i nerki oraz piersi, jajnika, prostaty. Doktorantka wykazała cechy starannego i rzetelnego pracownika naukowego, który dba o wiarygodne przedstawienie wykonanych eksperymentów i uzyskanych wyników; i który perfekcyjnie opanował warsztat naukowy. W sposób konsekwentny przeprowadziła badania, które poddane krytycznej ocenie recenzentów zyskały uznanie redaktorów i zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska jest niewątpliwie oryginalna. Należy podkreślić, że pomysł i koncepcja pracy są pionierskie. Wciąż niewiele jest badań prowadzonych przez Polskich naukowców lub/i w Polsce, z wykorzystaniem różnych genomowych baz człowieka, w aspekcie modulowania procesów kancerogenezy poprzez kluczowe elementy różnych szlaków przesyłania sygnału.

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Doroty Anusewicz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wnoszącego istotne, nowe treści do rozwoju nauki oraz potwierdza bardzo wysoki poziom wiedzy Doktorantki w zakresie szerokiego wachlarza obszarów naukowych, które mieszczą się w dyscyplinie nauki medyczne ujętych w niniejszej rozprawie, a także w sposób niebudzący żadnych wątpliwości potwierdza jej umiejętność samodzielnego i odważnego prowadzenia pracy naukowej, tj. spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 z późniejszymi zmianami).

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Jednocześnie, z pełnym przekonaniem wnioskuję Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Łódź, 6 sierpnia 2021 r.

