



Warszawa, 19.07.2021 r.

Prof. dr hab. Tadeusz Malewski

Pracownia Technik Molekularnych i Biometrycznych

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Orzechowskiej

pt. „Molekularne profile raka piersi, jajnika i prostaty związane ze wznową i progresją choroby ze szczególnym uwzględnieniem szlaku Notch“

Pojawienie się terapii ukierunkowanych na cele molekularne stanowiło przełom w leczeniu onkologicznym. Zdarza się, że podobne zmiany i mutacje udaje się znaleźć w komórkach nowotworowych różnych jednostek chorobowych. W takiej sytuacji w walce z nowotworami powstałymi w różnych narządach skutecznym będzie ten sam lek, działający na ten sam cel molekularny.

Jednym ze szlaków wspólnych dla raka piersi, jajnika i prostaty jest szlak Notch. U ludzi występują cztery receptory Notch oraz pięć kanonicznych ligandów do tego receptora. Na jednym z etapów kaskady przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowa domena Notch zostaje translokowana do jądra komórkowego oddziałuje z białkiem CSL i tworzy kompleks aktywacyjny, dzięki któremu dochodzi do ekspresji czynników transkrypcyjnych z rodziny HES i HEY. Czynniki transkrypcyjne regulują ekspresję genów wpływających na proliferację i różnicowanie komórek, organogenezę, angiogenezę, adhezję i międzykomórkowe interakcje. Uwzględniając nadrzędną rolę ścieżki Notch decydującego o przeznaczeniu komórek prekursorowych, szlak ten zdaje się być istotnym elementem biologii nowotworów. W zaawansowanych nowotworach aktywacja szlaku Notch odpowiada również za progresję procesu nowotworowego.

Rak piersi jest najczęściej występującym nowotworem stanowiącym ponad 1/5 wszystkich zachorowań z powodu nowotworów złośliwych u kobiet, a rak jajnika około 5%. Z kolei, rak prostaty stanowi około 13% i jest drugim po raku płuca najczęściej występującym nowotworem u mężczyzn.

Skuteczność terapii celowanej zależy od znajomości molekularnych mechanizmów leżących u podstawy nowotworu. Udział szlaku Notch w rozwoju normalnej tkanki był głównie badany w organizmach modelowych (*D. melanogaster*, *C. elegans*), jednak brakuje wiedzy o jego funkcjach w tkankach człowieka. Dotychczas opublikowane badania dotyczą pojedynczych elementów szlaku Notch. Brak jest natomiast badań dotyczących globalnego profilu ekspresji genów szlaku Notch oraz analizy znaczenia zachodzących w nim zmian dla przebiegu kancerogenezy. W związku z tym wybór tematu rozprawy doktorskiej należy uznać za trafny i merytorycznie uzasadniony.

Założenia i cele zostały jasno i precyzyjnie sformułowane. Doktorantka sformułowała dwa cele pracy:

1. zweryfikowania hipotezy czy zmiany ekspresji genów szlaku Notch różnicują ryzyko wznowy oraz przebiegu raka piersi, jajnika i prostaty poprzez modulowanie odmiennych procesów biologicznych regulowanych przez czynniki transkrypcyjne należące do rodziny HES i HEY;
2. czy związana z wiekiem zmiana stosunku sygnalizacji przez receptor androgenowy i receptor estrogenowy wpływa na przejście epitelialno-mezenchymalne związane ze wznową i progresją raka prostaty.

Oryginalność pracy Autorki polega na wykorzystaniu obszernych zgromadzonych w publicznie dostępnych repozytoriach danych dotyczących profilowania ekspresji genów. Stanowią one cenny materiał badawczy jednak często uważane są za mniej wartościowe niż dane eksperymentalne. Doktorantka przeprowadziła badania na imponującej liczbie danych transkryptomicznych nowotworów pierwotnych i sąsiadujących tkanek normalnych pochodzących od 1098 pacjentów z rakiem piersi, 301 z rakiem jajnika oraz 497 z rakiem prostaty publicznie udostępnionych przez Konsorcjum *The Cancer Genome Atlas* (TCGA). Mocną stroną pracy jest metodyka. Przy analizie tak dużej liczby danych umiejętny dobór metod odgrywa zasadniczą rolę. Do analizy danych Autorka zastosowała liczne metody badań wśród których warto wymienić Gene Set Enrichment Analysis, Weighted Gene Co-expression Network Analysis, Uniform Manifold Approximation and Projection.

Zastosowanie zaawansowanych metod analizy danych Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań zawierają rzetelną i wyczerpującą analizę i interpretację danych. Wiarygodność otrzymanych wyników nie budzi wątpliwości ponieważ oparte są one na licznych materiale badawczym.

Spośród licznych wyników otrzymanych przez Autorkę trzy zasługują szczególnie podkreślenie. Autorka po raz pierwszy wykazała listę genów docelowych czynników transkrypcyjnych specyficznych dla ścieżki Notch (HES/HEY) i zidentyfikowała gamę procesów komórkowych, które są regulowane przez te czynniki. Wyniki te opublikowała w pracy "Functional gene expression differentiation of the Notch signaling pathway in female reproductive tract tissues - a comprehensive review with analysis". Następnie porównała profile ścieżki Notch w 13 różnych nowotworach, w tym w raku prostaty oraz odpowiadających im tkankach normalnych co zaowocowało cenną publikacją "Notch signaling pathway in cancer - review with bioinformatic analysis"

Analizując wpływ zróżnicowania ekspresji genów szlaku Notch na ryzyko wznowy w podtypach raka piersi o przeciwstawnym statusie receptorów estrogenowego, progesteronowego oraz HER2, Autorka zidentyfikowała genetyczny „podpis” procesu metastazy oraz przejścia w kierunku stanu mezenchymalnego komórek nowotworowych na który składa się 9 genów o podwyższonej ekspresji oraz 83 geny o obniżonej ekspresji, z czego kolejno 4 o relatywnie niższej ekspresji (BCAP31, HSPA5, PRDX1, SERP1) i 3 o względnie wyższej ekspresji (MMP11, TAGLN, THBS2) były wspólne dla grup niekorzystnego rokowania. Uwzględniając funkcje molekularne pełnione przez MMP11, TAGLN, THBS2 Autorka zaproponowała powyższe geny jako potencjalne cele terapeutyczne.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani Magdaleny Orzechowskiej składa się z sześciu publikacji w których doktorantka jest równorzędnym pierwszym autorem pracy. Stanowią one spójny cykl, wzajemnie uzupełniających się publikacji. Wszystkie prace ukazały się drukiem w czasopiśmie z listy JCR. Dobór prac stanowiących jednotematyczny cykl publikacji został dokonany spójnie, logicznie i konsekwentnie.

Podsumowując uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Magdaleny Orzechowskiej, stanowi oryginalne dzieło naukowe, a uzyskane wyniki są dobrze uzasadnione rezultatami odpowiednio zastosowanych metod badawczych. Uważam, że

rezultaty te są wiarygodne i oryginalne, w znaczący sposób stanowiące *novum* naukowe. Autorka wykazała zarówno wystarczające kompetencje w stosowaniu nowoczesnych narzędzi analizy danych transkryptomicznych jak i profesjonalizm w znajomości transkryptomiki, molekularnych mechanizmów kancerogenezy oraz szlaków sygnałowych warunkujących rozwój nowotworów.

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska mgr Magdaleny Orzechowskiej pt. „Molekularne profile raka piersi, jajnika i prostaty związane ze wznową i progresją choroby ze szczególnym uwzględnieniem szlaku Notch“ spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim w świetle art. 13 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 z późniejszymi zmianami i niniejszym **wnoszę o dopuszczenie mgr Magdaleny Orzechowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego**. Ponadto, ze względu na wysokie znaczenie uzyskanych wyników i ich publikacje w czasopismach o wysokim IF **rekomenduję Radzie Naukowej jej wyróżnienie**.

