



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

OCENA

**rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Orzechowskiej pt.
„Molekularne profile raka piersi, jajnika i prostaty 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 Magdaleny Orzechowskiej, przedkładam ocenę 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 Magdaleny Orzechowskiej pt. „Molekularne profile raka piersi, jajnika i prostaty 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 cztery oryginalne publikacje;
2. rozprawa doktorska Pani Magdaleny Orzechowskiej stanowi oryginalne rozwiązanie 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 strategicznymi. 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 piersi, jajnika, prostaty, płuca i nerek, 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 m.in. 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). Pomimo trudnego i złożonego charakteru, praca jest spójna i bardzo dobrze udokumentowana na każdym jej etapie.

Moja recenzja zawiera ocenę samodzielnej i wyodrębnionej części pracy zbiorowej, która dotyczy molekularne mechanizmów kancerogenezy w gruczole piersiowym, jajniku i gruczole prostaty, ze szczególnym uwzględnieniem szlaku Notch. Indywidualny wkład Doktorantki w powstanie rozprawy doktorskiej dotyczył opracowywania 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 4 stanowią podstawę mojej oceny (IF 19.261, MEiN 280 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, znaczenie pracy, 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 liczy łącznie z piśmiennictwem uzupełniającym i załącznikami 171 stron.

We wstępie Doktorantka w interesujący sposób opisuje proces przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) w progresji i metastazie nowotworów. W tej części zawarty jest opis mechanizmu molekularnego szlaku sygnałowego Notch i jego znaczenie w morfogenezie gruczołu sutkowego, jajników i gruczołu krokowego oraz w procesie kancerogenezy i progresji analizowanych nowotworów. Doktorantka w kolejnej części przedstawia dotychczasowe wyniki badań potwierdzające podwójną, onkogenna i supresyjną rolę szlaku przekazywania sygnału z udziałem Notch w transformacji nowotworowej. Część ta potwierdza bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Doktorantki do prowadzonych badań.

Doktorantka w części Materiały i metody opisuje publiczne bazy, z których zasobów korzystała w analizie genów szlaku sygnałowego Notch i genów potencjalnie modulowanych przez ten szlak. Począwszy od bazy TCGA z danymi transkryptomicznymi wraz z danymi klinicznymi od 1089 pacjentek z rakiem piersi, 301 pacjentek z rakiem jajnika i 497 pacjentek z rakiem prostaty, Doktorantka wykorzystywała również dane z bazy Kyoto Encyclopedia for Genes and Genomes (KEGG), Gene Transcription Regulation Database (GTRD) oraz Molecular Signature Database (MSigDB). 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.

Wyniki zostały zaprezentowane jako podsumowanie rezultatów opublikowanych w poszczególnych czterech oryginalnych publikacjach. Doktorantka wskazuje, że podstawą podjęcia tematyki dysertacji była próba analizy globalnego profilu ekspresji genów szlaku sygnalizacyjnego Notch i procesów modulowanych przez ten szlak w raku piersi, jajnika i prostaty oraz progresji choroby, również z uwzględnieniem wybranych danych klinicznych i demograficznych. Przedstawione założenia pracy Doktorantka ujęła w postaci głównego celu rozprawy doktorskiej, jakim było określenie roli szlaku Notch w mechanizmie powstawania wznowy i progresji raka piersi, jajnika i prostaty, z uwzględnieniem działania modulującego czynników transkrypcyjnych należących do rodziny HES i HEY specyficznych dla szlaku Notch. Na podstawie przeprowadzonych analiz Doktorantka wykazała istotny związek zróżnicowanych profili ekspresji genów szlaku Notch z ryzykiem wystąpienia wznowy raka piersi, jajnika i prostaty, poprzez ich oddziaływanie na procesy biologiczne bezpośrednio związane z progresją (głównie poprzez proces EMT) oraz nawrotem choroby nowotworowej. Ponadto zaproponowała wykorzystanie profili ekspresji związanych ze szlakiem Notch jako profili markerowych prognozujących określony przebieg kliniczny oraz rokowanie pacjenta. Doktorantka wykazała także, że różnorodny wzorzec aktywacji sygnalizacji poprzez szlak Notch wpływa na takie same mechanizmy molekularne (m.in. EMT) prowadzące do wznowy lub progresji różnych typów molekularnych raka piersi.

Drugorzędny cel pracy doktorskiej, jaki postawiła przed sobą Doktorantka dotyczył związku pomiędzy mechanizmem progresji i powstawania wznowy choroby a wiekiem i statusem hormonalnym w raku prostaty. Doktorantka wykazała istotnie odmienny mechanizm procesu EMT





związany z wiekiem pacjentów, a spowodowany zmianami w statusie receptorów hormonów steroidowych, androgenowego i estrogenowego.

Pani mgr Magdalena Olszewska 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 Magdaleny Orzechowskiej 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 piersi, jajnika, prostaty oraz płuca i nerki. 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 doktorskiej 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 Magdaleny Orzechowskiej 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.

