



UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra Morfologii i Embriologii Człowieka

Zakład Histologii i Embriologii

prof. dr hab. Piotr Dziegiel

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Mgr Magdaleny Lipok
pt.: „Selekcja i optymalizacja peptydowych antagonistów
oddziaływania FGF1-FGFR1 ”

Nowotwory złośliwe stanowią drugą przyczynę zachorowań i zgonów, po chorobach układu krążenia, na świecie oraz w Polsce. Przez ostatnie półwiecze, głównie dzięki badaniom w obszarze biologii molekularnej, został poczyniony ogromny postęp w zakresie ww. schorzeń, czego dowodem może być m. in. rozwój szeroko pojętej immunoterapii. Zastosowanie specyficznych przeciwciał monoklonalnych, skierowanych przeciwko różnorodnym receptorom, a także strukturom białkowym, które odpowiedzialne są za nasilenie proliferacji komórek nowotworowych, ich przeżywalność oraz blokowanie odpowiedzi immunologicznej, czy rozwój nowych naczyń limfatycznych i krwionośnych (limfo- i angiogeneza) w znaczący sposób poprawiło czas przeżycia pacjentów onkologicznych chorujących na nowotwory płuc, gruczołu piersiowego, jelita grubego oraz wiele innych. Odkrycie mechanizmów komórkowych, opierających się na szlakach przekazywania sygnału odbieranego z zewnątrz, a co za tym idzie zidentyfikowanie specyficznych białek w tym kinaz tyrozynowych, umożliwiło zaprojektowanie oraz zastosowanie co najmniej kilkudziesięciu leków precyzyjnie skierowanych przeciwko wyznaczonym celom zlokalizowanym w komórkach nowotworowych. Wszystkie te działania można określić mianem „terapii celowanej”, które leżą u podstaw szerszego określenia, szczególnie aktualnego na początku XXI wieku, a mianowicie „terapii personalizowanej”. Filozofia takiego podejścia w obszarze leczenia chorób nowotworowych opiera się na kluczowym założeniu określającym cel terapii, jakim jest komórka nowotworowa. Ma to oczywiście głębsze implikacje w aspekcie ograniczenia, a nawet wyeliminowania działań ubocznych, dotychczasowych rutynowych metod leczenia stosowanych w klinice onkologicznej.

Mając na uwadze powyżej przytoczone informacje, jednoznacznie stwierdzam, że temat podjętych przez doktorantkę badań jest niezwykle aktualny oraz adekwatny do potrzeb jakie wyznacza współczesna onkologia nowoczesnej nauce. Będąc lekarzem patomorfologiem oraz naukowcem

działającym m. in. w tematyce onkologii eksperymentalnej, bardzo się cieszę, że tego typu badania są prowadzone we Wrocławiu, w zaprzyjaźnionej Uczelni. Co więcej, są one prowadzone pod kierunkiem uznanego autorytetu naukowego jakim jest Pan Prof. Jacek Otlewski, który już od wielu lat zajmuje się z dużymi sukcesami tematyką oddziaływań fibroblastycznych czynników wzrostu (FGF) z ich receptorami (FGFR).

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska w moim odczuciu jest bardziej pracą metodyczną, lecz nie pozbawioną elementów typowego eksperymentu w modelu *in vitro*. Posiada typowy układ z poszczególnymi częściami w postaci odrębnych tematycznie rozdziałów.

Pierwszym rozdziałem jest oczywiście „Wstęp”, w którym autorka wprowadza czytelnika w „meandry świata” receptorów rodziny FGF oraz ich ligandów, mechanizmów ich wzajemnego oddziaływania, a także możliwości ich blokowania. Jest to „podróż” fascynująca, tym bardziej, że doktorantka w przystępny sposób tłumaczy zawiłości związane z ww. tematyką. Poza pewnymi nieścisłościami, najprawdopodobniej wynikającym ze specyfiki nomenklatury medycznej, nie mam zastrzeżeń do tej części pracy i uważam, że zawiera ona doskonałe kompendium wiedzy w zakresie podjętej tematyki badań. Nieścisłości dotyczą m. in.:

- str. 16, str. 24 – niedrobnokomórkowy rak płuc (NSCLC), to grupa trzech nowotworów płuc (gruczolakorak, rak płaskokomórkowy, rak wielkokomórkowy) klasyfikowanych na podstawie obrazu histologicznego oraz przebiegu klinicznego. Nie jest to samodzielna jednostka chorobowa.
- str. 16 i in. – ucieszyłem się, czytając streszczenie pracy z użycia przez doktorantkę określenia „nowotwory gruczołu piersiowego” i byłem pewien, że w dalszych częściach pracy będzie już tylko funkcjonował „rak gruczołu piersiowego”, co jak podkreślam od wielu lat w różnych gremiach, jest słuszne, gdyż w 90% nowotwory te (raki) wywodzą się z komórek struktur gruczołowych tego narządu. Jednakże w dalszych częściach pracy doktorskiej funkcjonuje określenie „rak piersi”.
- str. 16 – nie można używać określenia „nowotwór mieloproliferacyjny”, gdyż w polskim mianownictwie przyjęte jest określenie „zespoły mieloproliferacyjne”, do których zalicza się: przewlekłą białaczkę szpikową, czerwienicę prawdziwą, samoistne włóknienie szpiku (mielofibroza) oraz nadpłytkowość samoistną.
- str. 16 – także lepiej użyć określenia - rak wewnątrzwątrobowych dróg żółciowych
- str. 17, str. 18 – proponuję ujednoczyć określenie „karcynogeneza” vs. „kancerogeneza”
- str. 18 – zdaję sobie sprawę z faktu, że określenie „*splicing*” zostało ogólnie zaakceptowane, jednakże czy polskie mianownictwo sugerujące „alternatywne składowanie” ma rację bytu?
- str. 20 – myślę, że chodziło o rozwój farmakologii a nie farmacji?
- str. 20 – określenie „*czas cyrkulacji*” raczej zastąpiłbym – czasem półtrwania w układzie krążenia (farmakokinetyka)

- str. 20 – pojęcie „*markery komórek nowotworowych*” jest bardzo obszerne i obejmuje różnorodne antygeny, których detekcję wykorzystuje się w diagnostyce, ocenie rokowniczej czy predykcyjnej nowotworów złośliwych. Proponuję przeredagować zdanie dotyczące ww. określenia w aspekcie terapii celowanej.
- str. 20 - badania mające za zadanie poszukiwanie potencjalnych leków oddziałujących specyficznie z wybranym celem molekularnym są prowadzone nie tylko przez firmy farmaceutyczne, czego dowodem są przeprowadzone eksperymenty doktorantki.
- str. 21 – lepiej napisać po prostu - „raka nerki”
- str. 21 – pojęcie mięsak (sarcoma) jest bardzo obszerne i dotyczy wszystkich nowotworów złośliwych wywodzących się z komórek pochodzących z mezodermy. O jakiego mięsaka chodziło?
- str. 21 – nie bardzo rozumiem stwierdzenie: „...pojawienie się nowych naczyń krwionośnych w komórkach *endotelialnych*...” ?
- str. 26 – proszę przeredagować: „...*zmniejszenie guzów nowotwory płuc i endometrium*...” oraz „*Białko to w 2012 roku z powodzeniem ukończyło I etap badań klinicznych*...”
- str. 27 - powinno być (thrombospondin-1)
- str. 28 – dodałbym słowo „*utkania*” - „*heterogenność utkania guzów*”

Cel pracy jest jasno i konkretnie sformułowany i opiera się na czterech celach pomocniczych, które wyczerpująco określają postawione zadania badawcze oraz precyzują tok postępowania w zaplanowanych eksperymentach.

Rozdział „Materiały” jest niezwykle szczegółowo przedstawiony i nie pozostawia recenzentowi żadnych przesłanek dotyczących pominięcia lub braku opisu w zakresie użytych do przeprowadzenia badań materiałów oraz aparatury.

Rozdział 4. „Metody”, to w mojej opinii kluczowy rozdział informacyjny, który zawiera skrupulatne opisy doświadczeń mających na celu uzyskanie oczekiwanych rezultatów w postaci wyselekcjonowania odpowiednich peptydów blokujących mechanizm oddziaływania FGFR1 z FGF1. Muszę przyznać, że na wielu zaprezentowanych metodach badań nie znam się, ale ich opis pozwolił mi bezwzględnie rozszerzyć moja wiedzę i być może wykorzystać w przyszłości do eksperymentów prowadzonych w Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Nie mając ugruntowanej wiedzy w ww. zakresie jestem przekonany o prawidłowym doborze poszczególnych metod, tym bardziej, że nad rzetelnością i prawidłowością prowadzonych badań czuwał Promotor oraz Promotor Pomocniczy, będący ekspertami w tego typu eksperymentach. Jedyne moje pytanie dotyczy tylko zagadnienia potwierdzenia ekspresji receptorów FGF w użytych do badań komórkach?

Kolejny rozdział to „Wyniki”. Również tutaj nie mam uwag. W mojej ocenie doktorantka w sposób przekonujący i klarowny przedstawiła poszczególne uzyskane rezultaty, zgodnie z zaplanowanymi celami badań. Co najważniejsze całość tej części pracy jest oparta na „ciągu logicznym” przeprowadzanych eksperymentów, które w konsekwencji doprowadziły do wytypowania oraz uzyskania cyklicznego peptydu R^oF8, który efektywnie wpływa hamująco na mechanizm działania FGF1-FGFR1, co zostało również potwierdzone testami określającymi proliferację oraz przeżywalność użytych w eksperymentach komórek, a także metodą Western Blott w przypadku obniżenia ekspresji białek sygnałowych szlaków ww. procesów.

Zdaję sobie sprawę, że trudno dyskutować jeżeli nie ma ku temu należytych podstaw. Doktorantka właśnie z taką sytuacją się zetknęła, gdyż jej praca obejmuje bardzo nowotarskie zagadnienie – peptyd tego typu przez Nią wyselekcjonowany (R^oF8) jest jak do tej pory jedynym opisanym w literaturze światowej. Jednakże zachęcałbym do tego aby w przyszłości „Dyskusję” potraktować jako polemikę oraz porównanie z już dostępnymi podobnymi rezultatami innych autorów, oczywiście w świetle swoich własnych osiągnięć. Czytając ten rozdział miałem wrażenie powtarzania rozdziału „Wyniki”, tylko trochę w innej formie.

Rozprawę doktorską wieńczy „Podsumowanie”, które jest przedstawione w postaci jakby sześciu wniosków opisujących osiągnięte rezultaty przeprowadzonych przez doktorantkę badań. W moim odczuciu najważniejszym wnioskiem płynącym z wykonanej przez Panią Mgr Magdalene Lipok pracy jest fakt możliwości wyselekcjonowania cząsteczki, która w przyszłości (po licznych badaniach w modelach *in vivo* oraz testach klinicznych) może być unikalnym lekiem, ratującym życie i zdrowie milionom ludzi na całym świecie, dotkniętych chorobą nowotworową. Jest to tym bardziej cenne, że eksperymenty te zostały przeprowadzone we Wrocławiu, ośrodku akademickim którego jesteśmy członkami.

Mając na uwadze powyżej zawarty tekst recenzji oraz będąc przekonanym, że Mgr Magdalena Lipok na podstawie ocenianej pracy doktorskiej oraz pozostałych wymaganych ustawowo kryteriów, spełnia wymogi do nadania stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie nauki biologiczne, zawarte w 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. nr 65, poz. 595 z późn.zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.), wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o nadanie Jej Osobie stopnia doktora nauk biologicznych.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie powierzonej mi do oceny rozprawy doktorskiej, a uzasadnieniem jest przedstawienie nowatorskiego tematu pracy o unikalnej wartości poznawczej z wykorzystaniem zaawansowanych technik i metod badawczych.



Wrocław, 01.04.2022

Prof. dr hab. Piotr Dzięgiel