

Prof. dr hab. Iwona Bogacka
Katedra Anatomii i Fizjologii Zwierząt
Wydział Biologii i Biotechnologii
UWM w Olsztynie
10-718 Olsztyn
Ul. Oczapowskiego 1A

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Marty Hoffmann-Młodzianowskiej
pt. *Rola apeliny i chemeryny w biologii raka jajnika z uwzględnieniem zmian*
w ich ekspresji pod wpływem BPA i jego pochodnych

Ogólna charakterystyka

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, w Instytucie Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego, pod opieką naukową Pani dr hab. Anny Ptak, prof. nadzw. UJ. Rozprawę doktorską stanowi zbiór trzech artykułów naukowych – niżej wyszczególnionych – opublikowanych w języku angielskim w czasopismach z listy *Journal Citation Reports*, których łączny wskaźnik *IF* wynosi 9,105 (Doktorantka nie wskazuje punktacji przypisanych poszczególnym publikacjom przez MNiSW, według moich wyliczeń łączna punktacja wynosi 270):

1. **Hoffmann M**, Gogola J, Ptak A. Apelin abrogates the stimulatory effects of 17 β -estradiol and insulin-like growth factor-1 on proliferation of epithelial and granulosa ovarian cancer cell lines via crosstalk between APLNR and ER α /IGF1R. *Mol Biol Rep.* 2019, 46(6): 6325-6338. (*IF* – 2,107)
2. **Hoffmann M**, Fiedor E, Ptak A. Bisphenol A and its derivatives tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A induce apelin expression and secretion in ovarian cancer cells through a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanism. *Toxicol Lett.* 2017, 269: 15-22. (*IF* – 3,499)
3. **Hoffmann M**, Rak A, Ptak A. Bisphenol A and its derivatives decrease expression of chemerin, which reverses its stimulatory action in ovarian cancer cells. *Toxicol Lett.* 2018, 291: 61-69. (*IF* – 3,499)

Publikacje są współautorskie i we wszystkich Doktorantka jest pierwszym autorem. Na podstawie przedłożonych oświadczeń współautorów wynika, że Pani mgr M. Hoffmann-Młodzianowska pełniła wiodącą rolę w powstawaniu tych publikacji, bowiem Jej udział wynosił 75% w każdej z nich i obejmował m.in. kierowanie projektem, przeprowadzenie doświadczeń laboratoryjnych, interpretację otrzymanych wyników oraz przygotowanie pracy do druku. Zbiór publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej poprzedza polskojęzyczne opracowanie, w skład którego wchodzi: spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, informacja o trzech opublikowanych oryginalnych pracach, wstęp, opis

modelu badawczego oraz zadań badawczych, dyskusja, obszerna bibliografia a także oświadczenia współautorów. Ponadto każda załączona anglojęzyczna publikacja jest zaopatrzona w podsumowanie w języku polskim. Należy podkreślić, że prezentowane wyniki badań uzyskano dzięki realizacji dwóch projektów badawczych (OPUS Nr 2013/09/B/NZ7/00405 oraz PRELUDIUM Nr 2016/21/N/NZ5/00161) finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki.

Analiza merytoryczna

Tematyka badawcza ocenianej rozprawy doktorskiej dotyczy określenia roli apeliny i chemeryny w biologii nowotworu jajnika. Są to dwie ważne adipokiny, których występowanie potwierdzono w wielu tkankach organizmu. Plejotropowe działanie i ważną rolę apeliny i chemeryny podkreślano w regulacji różnych procesów zachodzących w organizmie, w tym także procesów zachodzących w układzie rozrodczym, jednak znaczenie tych hormonów było dotychczas przedmiotem badań w kontekście innym niż tym analizowanym przez Autorkę. Znaczenie apeliny i chemeryny w progresji nowotworów jajnika jest wciąż niedostatecznie scharakteryzowane, a przedstawione przez Doktorantkę nowe wyniki w pewnym stopniu tę lukę uzupełniają. W prezentowanej rozprawie doktorskiej przyjęto dwie hipotezy badawcze zakładające, że: 1) apelina i chemeryna produkowane przez komórki nowotworowe jajnika odgrywają istotną rolę w biologii nowotworu, a ich działanie bezpośrednie lub pośrednie z 17β -estradiolem oraz IGF-1 wpływa na procesy związane z progresją tego nowotworu; 2) egzogenne związki (BPA, TBBPA, TCBPA) hormonalnie czynne zmieniają ekspresję adipokin, a w konsekwencji modulują ich aktywność w komórkach raka jajnika. W celu zweryfikowania powyższych hipotez, Doktorantka zrealizowała 5 zadań badawczych, a jako model badawczy wybrała różne linie komórek jajnika, w tym prawidłową nienowotworową (nabłonka, HOSEpiC) oraz linie komórek nowotworowych – pochodzenia nabłonkowego (OVCAR-3, SKOV-3, Caov-3) oraz ziarniszczaka, należące do typu nowotworów zrębu (COV434, KGN).

Prowadzenie badań w proponowanym obszarze naukowym uważam za szczególnie pożądane ze względu na coraz częściej podkreślaną i dosyć znaną już zależność pomiędzy zaburzoną produkcją adipokin przez tkankę tłuszczową a rozwojem chorób nowotworowych. Za istotne należy uznać również te badania, których celem była analiza wpływu związków powszechnie występujących w środowisku, takich jak bisfenol A oraz jego pochodne TBBPA, TCBPA. Zatem, podjęte przez Doktorantkę badania uważam w pełni za uzasadnione, a tematykę badawczą – za interesującą i aktualną. O tym, że badania są ważne i nowatorskie może również świadczyć fakt uzyskania bardzo wysokiej ich oceny i co z tym jest związane – uzyskanie finansowania przez NCN na ich prowadzenie w ramach dwóch wymienianych wcześniej projektów.

Podstawą przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej są, jak już wcześniej wspomniałam, trzy oryginalne prace naukowe opublikowane w bardzo dobrych, prestiżowych czasopismach o międzynarodowym zasięgu, które z pewnością zostały bardzo rzetelnie ocenione przez zespół recenzentów oraz edytorów poszczególnych redakcji czasopism. Niemniej jednak rolą recenzenta rozprawy doktorskiej jest ich analiza całościowa. Należy podkreślić, że analizowane prace są tematycznie, ale również metodycznie, spójne i wartościowe pod względem poznawczym. Szeroki zakres stosowanych metod

eksperymentalnych wskazuje na duże umiejętności Doktorantki i bogaty warsztat badawczy w zakresie biologii molekularnej. Zastosowane w badaniach analizy laboratoryjne są nowoczesne i właściwie dobrane do założonych celów badawczych; są również dobrze opisane w pracach i polskojęzycznym opracowaniu rozprawy. Poprawne są również analizy statystyczne przeprowadzone przy opracowaniu uzyskanych wyników.

Przedstawione w rozprawie doktorskiej badania Pani mgr Marty Hoffmann-Młodzianowskiej dostarczyły kilku interesujących obserwacji. Spośród nich za szczególnie istotne należy uznać:

1. wykazanie zróżnicowanej koncentracji mRNA i białka apeliny i chemeryny w badanych ludzkich liniach komórek nowotworowych jajnika pochodzenia nabłonkowego oraz zrębowego,
2. wykazanie raczej pronowotworowego charakteru apeliny w prowadzonych badaniach, który wyrażał się m.in. stymulującym wpływem tej adipokiny na proliferację komórek nowotworowych jajnika pochodzenia nabłonkowego,
3. wykazanie antagonistycznego działania apeliny na stymulowaną przez IGF-1 proliferację komórek linii ziarniszczaka jajnika na skutek interakcji APLNR z IGF1R oraz na stymulowaną przez 17β -estradiol proliferację komórek nowotworowych pochodzenia nabłonkowego na skutek interakcji APLNR z $ER\alpha$,
4. wykazanie stymulującego działania bisfenolu A oraz pochodnych TBBPA i TCBPA na ekspresję apeliny w komórkach nowotworowych nabłonka jajnika poprzez receptor jądrowy PPAR γ ,
5. wykazanie hamującego działania bisfenolu A oraz pochodnych TBBPA i TCBPA na ekspresję chemeryny w komórkach ziarniszczaka jajnika poprzez receptory $ER\alpha/\beta$ oraz PPAR γ ,
6. wykazanie braku wpływu chemeryny na proliferację oraz apoptozę regulowaną aktywnością kaspazy-3 w komórkach nowotworowych jajnika.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań są bardzo interesujące, a niektóre z nich nawet zaskakujące, zwłaszcza te dotyczące apeliny. Z jednej strony wykazano działanie mitogenne (pronowotworowe) apeliny, z drugiej natomiast strony jej interakcja z E2 oraz IGF-1 wskazuje na działanie przeciwstawne. Wyniki te świadczą o złożoności mechanizmów regulujących aktywność proliferacyjną badanych czynników w różnych typach nowotworu jajnika, które z pewnością wymagają wyjaśnienia w kolejnych badaniach. W dyskusjach zamieszczonych w publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz w jej polskojęzycznym opracowaniu podjęto wnikliwą analizę i interpretację prezentowanych wyników. Bardzo pozytywnie oceniam także uwzględnienie w dyskusji schematów obrazujących potencjalne mechanizmy działania badanych adipokin oraz związków egzogennych BPA, TBBPA i TCBPA w komórkach nowotworowych jajnika. Świadczy to o zrozumieniu tematyki badawczej oraz o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Uwagi i pytania

Podczas analizy ocenianej rozprawy doktorskiej nasunęło mi się kilka uwag i pytań, które przedstawiam poniżej i proszę Doktorantkę o odniesienie się do nich.

1. W streszczeniu rozprawy doktorskiej, w jednym z ostatnich zdań podsumowujących Doktorantka wskazuje, że chemerynę można zakwalifikować do adipokin działających antynowotworowo, natomiast żaden z 8 wniosków (brzmiących bardziej jako podsumowanie uzyskanych wyników) zawartych w dyskusji polskojęzycznego opracowania nie zawiera takiego, moim zdaniem, dosyć odważnego stwierdzenia. Proszę o komentarz, czy w kontekście uzyskanych wyników badań, w których nie wykazano wpływu chemeryny m.in. na proliferację i apoptozę badanych komórek nowotworowych można uznać ją za czynnik antynowotworowy. Ponadto, nasuwa się pytanie, czy wskazane przez Doktorantkę pronowotworowe działanie apeliny dotyczy wszystkich typów badanych komórek czy określonego typu. Sugerowałabym uwzględnienie w dyskusji ogólnego wniosku/wniosków dotyczącego działania badanych czynników w różnych typach komórek nowotworowych.
2. Dlaczego w zadaniu badawczym 1 (również w innych zadaniach) zastosowano różne czasy badania ekspresji genów kodujących apelinę i chemerynę oraz ich receptory (RT-PCR po 24 godz. hodowli), ekspresji białka (Western blot po 48 godz. hodowli) a także sekrecji adipokin w medium hodowlanym (testy immunoenzymatyczne po 48 godz. hodowli)?
3. Jaki problem badawczy, który wyłonił się z Pani badań, uważa Pani za najbardziej interesujący i zasługujący na wyjaśnienie w najbliższej przyszłości (dlaczego?).

PODSUMOWANIE

Pragnę stwierdzić z pełnym przekonaniem, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska prezentuje wysoki poziom naukowy, a uzyskane przez Doktorantkę wyniki nie tylko dostarczają nowych danych, które stanowią cenne uzupełnienie wiedzy z zakresu roli adipokin w biologii raka jajnika, ale mogą stanowić podstawę do prowadzenia kolejnych eksperymentów. Opublikowane prace, będące podstawą rozprawy doktorskiej, są rzetelnie przygotowane, zawierają jasno określone cele poparte dobrze przeprowadzonymi doświadczeniami i uzyskanymi wynikami oraz merytoryczną dyskusją. Na podkreślenie zasługuje również szeroki zakres prowadzonych badań naukowych oraz kompleksowe podejście do rozpatrywanego problemu. Doktorantka wykazała się szeroką wiedzą oraz umiejętnościami w doborze i posługiwaniu się licznymi i nowoczesnymi metodami biologii molekularnej. Na podstawie analizy ocenianej rozprawy doktorskiej można sądzić, że Doktorantka zdobyła niezbędne doświadczenie i umiejętności przydatne w przyszłej pracy badawczej. Na wyróżnienie zasługuje fakt, że na dotychczasowy dorobek naukowy Doktorantki wg bazy *Web of Science* składa się z 10 publikacji, w których jest Ona współautorem (ilość cytowań wynosi 110 a indeks *h* – 6). Ponadto w dorobku należy wskazać kierowanie projektem PRELUDIUM w latach 2017-2019.

W moim przekonaniu, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. „Rola apeliny i chemeryny w biologii raka jajnika z uwzględnieniem zmian w ich ekspresji pod wpływem BPA i jego pochodnych” w pełni spełnia wymogi określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z 2005 r. Nr 164, poz. 1365; z 2010 r. Nr 96, poz. 620, Nr 182, poz. 1228; z 2011 r. Nr 84, poz. 455) i zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki

Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, z wnioskiem o przyjęcie rozprawy doktorskiej Pani mgr. Marty Hoffmann-Młodzianowskiej oraz dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy zaprezentowanych wyników badań oraz ich twórczy charakter, co znajduje odzwierciedlenie w opublikowaniu ich w czasopismach o światowym zasięgu, pragnę przedłożyć Wysokiej Radzie wniosek o wyróżnienie niniejszej pracy.

Olsztyn, 14 sierpnia 2020 r.

Z poważaniem

