



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Biologii
Instytut Biologii Funkcjonalnej i Ekologii
Zakład Immunologii
prof. dr hab. Grażyna Korczak-Kowalska



Warszawa, 16.12.2021r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Dziedzic,
z tytułem:**

**Charakterystyka molekularnego mechanizmu działania innowacyjnych związków
małocząsteczkowych w immunoterapii nowotworów**

Praca doktorska Pani Katarzyny Dziedzic została wykonana na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytetu Jagiellońskiego. Promotorem pracy jest prof. dr hab. Jolanta Jura, a promotorem pomocniczym dr Paulina Węgrzyn.

Tematyka ocenianej pracy dotyczy eksperymentalnej immunoterapii nowotworów, poszukiwania nowych skutecznych leków. Prowadzone od lat badania pozwoliły na poszerzenie wiedzy w tym zakresie, ale nadal wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi. Istotna jest rola adenozyiny i receptorów adenozyinowych w rozwoju nowotworów i odpowiedzi układu odpornościowego, a tym samym możliwość wykorzystania antagonistów receptorów aden w terapii. W ten nurt poszukiwań wpisują się badania prowadzone przez mgr Katarzynę Dziedzic. Podjęcie się scharakteryzowania nowych, zsyntetyzowanych, antagonistów receptorów adenozyinowych typu A_2 należy uznać za ważne poznawczo zadanie naukowe z potencjałem aplikacyjnym.

Rozprawa doktorska Pani Katarzyny Dziedzic przedstawiona została w postaci manuskryptu, zawierającego 179 stron i podzielonego na typowe dla tego rodzaju dysertacji rozdziały. Wstęp jest dobrym wprowadzeniem do tematyki rozwijanej w rozprawie, opartym na przeglądzie wielu, ponad 270, pozycji z literatury przedmiotu. Doktorantka przedstawia charakterystykę adenozyiny, receptorów adenozyinowych oraz ich agonistów i antagonistów. Dokładnie też charakteryzuje rolę adenozyiny w funkcjonowaniu układu odpornościowego, który jak wiadomo odgrywa ważną rolę w kontrolowaniu rozwoju nowotworów. Rozdział napisany jest w sposób zwięzły, a jednocześnie poruszone zostały wszystkie zagadnienia

związane z prowadzonymi badaniami. Przejrzyście napisany Wstęp stanowi bardzo dobre wprowadzenie do przedstawienia hipotezy badawczej. Wybór publikacji będących podstawą budowania hipotezy świadczy o swobodnym poruszaniu się Doktorantki w tematyce.

W celu zweryfikowania postawionej hipotezy Doktorantka wykonała szereg doświadczeń zarówno *in vitro* na liniach komórkowych i komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej człowieka, jak i w układzie *in vivo* na mysim modelu szczepu BALB/c. Oceniano parametry fizyko-chemiczne wyselekcjonowanego związku SEL330-639 oraz jego wpływ na funkcję komórek układu odpornościowego człowieka i gryzoni. Doktorantka zastosowała szereg metod z zakresu biologii komórki, biologii molekularnej, biochemii i biofizyki, które dokładnie opisano. Przedstawiono również schematy przeprowadzonych doświadczeń, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*.

Kolejny, obszerny rozdział zawiera opis uzyskanych w badaniach wyników. Rozdział ten został podzielony na odpowiednie podrozdziały reprezentujące główne tematy rozprawy. Doktorantka opisuje uzyskane w badaniach wyniki, które zamieściła w wielu tabelach i rycinach, w większości kilkupoziomowych. Obszerne, wyczerpujące podpisy pod rycinami ułatwiają śledzenie myśli autorki. Dodatkową wartość przedstawia rozdział Dane uzupełniające, gdzie zawarto informacje przybliżające warsztat laboratoryjny i kryteria wykonywanych pomiarów i analiz.

Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki należy zaliczyć wykazanie, że związek SEL330-639 może przywracać prawidłową funkcję komórek układu odpornościowego, również w wysokim stężeniu adenozyiny, co może mieć istotne znaczenie w terapii przeciwnowotworowej. Wykazała, że jest on podwójnym antagonistą receptorów adenozyinowych typu A_{2A} i A_{2B} . Wysoką ekspresję receptora typu A_{2A} zaobserwowała na ludzkich limfocytach T, jednej z kluczowych populacji odporności nabytej, i wykazała, że jego ekspresja wzrasta wraz z czasem aktywacji poprzez receptor TCR, co było również związane z przyspieszeniem katabolizmu adenozyiny. Istotną jest również obserwacja, że w niedojrzałych komórkach dendrytycznych kluczową rolę w odpowiedzi na adenozyinę pełni receptor typu A_{2B} , natomiast w dojrzałych A_{2A} . Jest to ciekawa obserwacja ze względu na rolę komórek dendrytycznych w odpowiedzi immunologicznej. Komórki dojrzałe indukują odpowiedź na obce antygeny, natomiast niedojrzałe mogą prowadzić do rozwoju tolerancji. Doktorantka zaobserwowała różnice osobnicze w badaniach na komórkach człowieka, co jest spotykane w tego typu badaniach i może mieć wpływ w terapiach. Należałoby powiększyć grupę dawców krwi, i tym samym wyników w grupie, co sugeruje również Doktorantka w

dyskusji. Może należałoby pomyśleć, po potwierdzeniu tych obserwacji, o terapii indywidualnej pacjentów.

Związek SEL330-639 wydaje się być skuteczny również w wysokim stężeniu adenozyiny, co wydaje się być związane z kinetyką wiązania do receptora. Jest to szczególnie ważne ze względu na immunosupresyjne działanie adenozyiny, co Doktorantka potwierdziła w swoich badaniach. Tak więc, zastosowanie antagonistów jej receptorów, obecnych na komórkach układu odpornościowego, może być metodą zniesienia tej immunosupresji. Ponadto, Doktorantka wykazała, że związek SEL330-639 jest silnym inhibitorem produkcji cAMP. Na uwagę zasługuje dobra dokumentacja wyników. Prawidłowo zostały dobrane testy laboratoryjne i odpowiednie kontrole.

Ważną częścią rozprawy doktorskiej są badania z podaniem myszom, z wywołanym nowotworem jelita grubego, związku SEL330-639 w terapii złożonej, z przeciwciałem skierowanym przeciwko cząsteczce CTLA-4. Terapia ta powodowała wydłużenie przeżywalności myszy.

Wyniki badań świadczą o dobrym opanowaniu przez doktorantkę metodyki badawczej stosowanej w doświadczeniach i wskazują na Jej dużą wiedzę i umiejętności w tym zakresie. Uzyskane wyniki są obiecujące, ale wymagają jeszcze dalszych badań. W jakim kierunku, zdaniem Doktorantki, powinny być prowadzone?

Dyskusja napisana jest dojrzałe i przejrzyste. Uzyskane wyniki są omówione na tle dostępnej wiedzy. Doktorantka krytycznie podchodzi do uzyskanych wyników, starając się wskazać mocniejsze i słabsze punkty. Po dyskusji zamieszczono odpowiednie podsumowanie, podkreślające najważniejsze osiągnięcia.

Na wyróżnienie zasługuje również edytorska strona pracy. Dysertacja napisana została bardzo starannie, mgr Katarzyna Dziejdz w jasny sposób przekazuje założenia pracy, wyniki i ich znaczenie w badaniach światowych. Trudno też doszukać się większych uchybień edytorskich, poza nielicznymi niezręcznymi sformułowaniami jak komórki T, zamiast limfocyty T; molekularne wzorce patogenności, zamiast wzorce molekularne związane z patogenami; potwierdzenie profilu bezpieczeństwa zarówno w gryzoniach jak i ssakach, czy nielicznymi literówkami.

Podsumowując, oceniam rozprawę doktorską mgr Katarzyny Dziejdz pozytywnie. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wskazuje na ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie prowadzonych badań. Wykazała się również

umiejętnością samodzielnego wykonywania pracy naukowej. Rozprawa spełnia wymagania określone w artykule 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) Tym samym, przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego wniosek o dopuszczenie mgr Katarzyny Dziedzic do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Wnioskuje również o wyróżnienie rozprawy nagrodą. Doktorantka wykazała się umiejętnością samodzielnego rozwiązywania postawionych zadań naukowych, znajomością i opanowaniem wielu nowoczesnych technik laboratoryjnych, szeroką znajomością tematu, a sama rozprawa napisana została jasno i kompetentnie.



prof. dr hab. Grażyna Korczak-Kowalska