



**WOJSKOWY INSTYTUT  
HIGIENY I EPIDEMIOLOGII**

ul. Kozielska 4, 01-663 Warszawa



**WOJSKOWY INSTYTUT HIGIENY I EPIDEMIOLOGII**

**im. gen. Karola Kaczkowskiego**  
01-163 Warszawa, ul. Kozielska 4  
tel. 261 853 101, fax 261 853 133  
e-mail: [kancelaria.jawna@wihe.pl](mailto:kancelaria.jawna@wihe.pl)

04 CZE. 2024

Warszawa, 27 maja 2024 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
Rada Dyscypliny Nauki biologiczne  
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie**

Imię i nazwisko kandydata: **mgr Aleksandra SOLECKA**

Tytuł rozprawy doktorskiej: **Regulacja inwazyjności, apoptozy i metabolizmu komórek glejaka wielopostaciowego przez Regnazę -2.**

Promotor: **dr hab. Aneta KASZA, prof. UJ**

Recenzent: **dr hab. n. med. inż. Beata PAJĄK, prof. WIHE**

**Zakład Biologii Medycznej, Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii im. gen. K. Kaczkowskiego w Warszawie**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Soleckiej dotyczy weryfikacji znaczenia aktywności Regnazy-2 w kontekście regulacji procesów proliferacji, inwazyjności, apoptozy oraz metabolizmu komórek glejaka wielopostaciowego. Badania były prowadzone w ramach projektu OPUS „Funkcja RNazy ZC3H12B w patofizjologii glejaka wielopostaciowego”, którego kierownikiem jest Promotorka pracy, Pani dr hab. Aneta Kasza.

Glejak wielopostaciowy jest jednym z największych wyzwań terapeutycznych współczesnej medycyny, ze względu na agresywny rozwój nowotworu, wysoki współczynnik nawrotów choroby oraz niekorzystane rokowania przeżycia dla pacjentów. Wysoka heterogenność nowotworu, obecność bariery krew-mózg, środowisko hipoksji oraz oporność na radio- i chemioterapię są głównymi przyczynami ograniczonej dostępności terapii w tym wskazaniu. Wystarczy wspomnieć, iż standard terapii GBM pozostaje niezmienny od ponad 20 lat. Pomimo ogromnego postępu w terapii nowotworów, wprowadzenia wielu innowacyjnych leków, inhibitorów kinaz, przeciwciał monoklonalnych, terapii immunologicznych, nadal istnieje potrzeba medyczna opracowywania nowych leków o wysokiej efektywności, specyficzności wobec komórek nowotworowych i wysokim profilu bezpieczeństwa dla pacjenta w nowotworach mózgu. Opracowywanie nowych kandydatów na leki może być jednak oparte wyłącznie na pogłębionej wiedzy na temat patofizjologii komórek glejaka i specyfiki ich procesów komórkowych. Wprowadzona ostatnio nowa klasyfikacja nowotworów mózgu, uwzględniająca profile genetyczne, jest dowodem znaczenia danych molekularnych dla terapii i rokowania. W tym kontekście zagadnienia poruszane w pracy doktorskiej są jak najbardziej aktualne i uzasadnione i skupiają się na zrozumieniu znaczenia białek z rodziny Regnaz, w tym głównie białka Regnazy-2 (Reg-2), dla cytofizjologii komórek glejaka. Rodzina Regnaz jest stosunkowo słabo poznaną rodziną białek a badania nad właściwościami Regnazy-2, prowadzone przez zespół Pani Prof. Kaszy należą do nielicznych w tych obszarze. Stąd badania zawarte w pracy doktorskiej mają charakter innowacyjny i mogą mieć znaczenie dla przyszłych kierunków poszukiwania cząsteczek o charakterze terapeutycznym.

W roku 2024 część wyników badań dotycząca znaczenia aktywności Regnazy-2 dla regulacji cyklu komórkowego została opublikowana w czasopiśmie Scientific Reports, z grupy wydawniczej Nature a Doktorantka jest współautorem publikacji.

Rozprawa doktorska ma formę monografii w języku polskim, obejmującą 124 strony maszynopisu. Rozprawa ma klasyczny układ rozdziałów pracy, na który składają się jednobrzmiące Streszczenia w języku polskim i angielskim, obszerny liczący 27 stron Wstęp, Cel pracy, Materiały, Metody, Wyniki, Dyskusję oraz Podsumowanie wyników, które raczej winno być określone mianem Wniosków oraz wykaz cytowanego piśmiennictwa, które stanowi 198 pozycji, z czego około 70% jest z ostatnich 10 lat. Praca zawiera także Spis treści, Wykaz skrótów, Wykaz Rycin, Wykaz Tabel oraz informację o wykorzystanych w pracy źródłach internetowych. Pod względem edycyjnym praca doktorska jest przygotowana bardzo starannie, z troską o spójność oznaczeń, podpisów oraz form przedstawienia danych tak aby były one jasne w odbiorze. Język rozprawy doktorskiej jest poprawny a Doktorantka w zręczny sposób formułuje treści. Co ważne, Ryciny zawierają wyczerpujące podpisy, które pozwalają na uzyskanie informacji o przedstawianym wyniku bez konieczności poszukiwania odnośników w tekście pracy. Jakość umieszczonych rycin, zdjęć i schematów jest wysoka i nie wzbudza zastrzeżeń.

Wstęp pracy jest syntetycznym opracowaniem zagadnień dotyczących tematyki badań i stopniowo wprowadza czytelnika z zagadnień bardziej ogólnych do coraz bardziej szczegółowych. Wstęp odnosi się zatem do problemu glejaka wielopostaciowego, znanych właściwości tego typu nowotworów w zakresie procesów immunosupresji, angiogenezy, migracyjności i inwazyjności, oporności na apoptozę, specyfiki metabolizmu komórek. Następnie Doktorantka skupia się na procesach ekspresji genów i ich regulacji przez ARID5A, roquinę-1 oraz rodzinę Regnaz. Wstęp kończy akapit opisujący system Sleeping Beauty jako technikę wprowadzania mutacji opartej o transpozony, która jest jedną z najnowszych technik mutagenyzy. Wstęp ilustrują także ryciny, które obrazują omawiane treści. Pomimo złożoności opisywanych zjawisk, tekst jest zrozumiały i stanowi ciekawe opracowanie. Wstęp jest napisany płynnie i klarownie, aczkolwiek w moim odczuciu brakuje w nim sformułowania hipotezy badawczej, która podsumowałaby przedstawione treści i wskazywała na płynące z nich pytania, które miały być weryfikowane w toku prac badawczych. Opis systemu Sleeping Beauty zawarłabym także w opisie Metod, gdyż niezbyt komponuje się z treścią teoretyczną kończącą Wstęp pracy.

Doktorantka postawiła sobie liczne cele badawcze, które sformułowała w 7 punktach. Aczkolwiek konfrontując Cele pracy z Wnioskami, wydaje się, iż umknął wśród nich cel dotyczący: Zbadania wpływu Regnazy-2 na ilość i skład wydzielanych przez komórki glejaka chemoatraktantów.

Materiały i Metody to dwa kolejne rozdziały, które w sposób dokładny przedstawiają warsztat badawczy Doktorantki. Należy zauważyć, iż prace badawcze były prowadzone na modelach kilku linii komórkowych reprezentujących glejaka o różnym pochodzeniu, ludzkim lub mysim. Część wyników pracy była także analizowana na materiale klinicznym od pacjentów, jednakże ta informacja jest zawarta dopiero w sekcji wyniki. W rozdziale Materiały powinna zostać umieszczona informacja o materiale klinicznym, technikach jego obróbki a także informacja o uzyskaniu zgody komisji etycznej na prowadzone badania. Doktorantka wykorzystwała szeroki wachlarz technik z zakresu biologii molekularnej, testy biochemiczne, techniki obrazowania, transfekcje komórkowe, co niewątpliwie jest atutem recenzowanej rozprawy. Tak wszechstronne zaplecze techniczne pozwala na rzetelne analizowanie zjawisk na różnych poziomach ich regulacji. Świadczy to także o wysokiej sprawności laboratoryjnej Doktorantki i jej dociekliwości naukowej. Z uwagi na rolę Recenzenta winnam jednak zwrócić uwagę na kilka drobnych braków. W wykazie wykorzystywanych w badaniach przeciwciał warto byłoby podać informację o technice, do której były stosowane (WB, ICC czy IP) oraz stosowanych rozcieńczeń. W Tabelach na stronach 39 i 48 końce oligonukleotydów powinny posiadać oznaczenie 5' i 3'. Barwnik Coomasie to po polsku kumazyna a w zapisach liczb dziesiętnych gdzieś znalazły się kropki zapożyczone z pisowni języka angielskiego zamiast polskich przecinków. Byłoby także cenne, gdyby stosowane w pracy schematy doświadczalne zilustrowano schematycznie w rozdziale Metody.

Rozdział Wyniki to aż 47 stron bogatego materiału dowodowego, w postaci licznych wykresów, paneli zdjęć i tabel, które w usystematyzowany sposób adresują kolejne cele badawcze pracy doktorskiej. Taka forma przedstawienia wyników z pewnością była trafnym wyborem, który ułatwia weryfikację zamierzeń Doktorantki.

Niestety w wielu paragrafach Wyników, opis obserwacji poprzedzają opisy typowe raczej dla rozdziału Metody (jak np. na stronie 52, wiersz 4-14; str. 57, str. 62, wiersz 15-27) lub Wstępu (str. 66, wiersz 12-30). Zamieszczone obserwacje są opatrzone adekwatną analizą statystyczną. Odnosząc się do merytorycznej zawartości wyników pracy chciałabym poprosić o komentarz Doktorantkę w zakresie możliwych induktorów ekspresji Reg-2. Doktorantka wskazuje w treści, iż obecnie nie są znane czynniki pobudzające syntezę białka i weryfikowała w tym kontekście aktywację receptorów TLR jako możliwych aktywatorów. Jak wykazały badania na modelu linii SH-SY-5, Reg-2 nie jest jednak celem oddziaływania szlaków sygnałowych zależnych od tej klasy receptorów. Jaki inne receptory Doktorantka rozważa jako kolejny trop w tym kierunku? Drugie pytanie dotyczy analiz chemoatraktantów wydzielanych do medium przez komórki o różnym statusie białka Reg-2. Pula możliwych chemoatraktantów jest pojęciem dość szerokim. Czy w analizach rozważano wykonanie np. panelu analiz typu ELISA najczęściej opisywanych chemoatraktantów aby ocenić zmiany poziomów konkretnych cytokin?

Dyskusja wyników pracy jest dojrzała i odwołuje się do najnowszych doniesień w obszarze opisywanych badań. Doktorantka biegle porusza się w licznych publikacjach, umiejętnie zestawiając uzyskane obserwacje z wynikami innych autorów. Identyfikuje zarazem słabe punkty oraz obszary, które wymagają dalszego pogłębienia, wskazując na dalsze kierunki badań. To mocna strona dysertacji. Jedyny niedosyt dotyczy nie zawarcia w Dyskusji podsumowania wyników, które znalazło się w rozdziale Podsumowanie Wyników (na str. 103). Rozdział ten powinien nosić tytuł Wnioski i krótko zaadresować w punktach odpowiedzi na postawione uprzednio cele badawcze. Graficzna ilustracja wykazanych w toku prac badawczych możliwych funkcji białka Reg-2 byłaby idealnym podsumowaniem Dyskusji.

Na podstawie przeprowadzonych badań, Doktorantka sformułowała 8 wniosków, które zostały udokumentowane rzetelnie wynikami prac badawczych.

#### Ocena końcowa

Podsumowując, wysoko oceniam rozprawę doktorską Pani mgr. Aleksandry Soleckiej. Tematyka pracy jest aktualna i nowatorska a zastosowany warsztat badawczy jest rozległy i zawiera najnowsze techniki biologii molekularnej. Otrzymane wyniki mają wysoką wartość poznawczą oraz stanowią kompleksowe opracowanie, które z pewnością spotka się z akceptacją redakcji czasopism. Wnioski pracy potwierdzają kontynuację badań nad białkami z rodziny Regnaz i ich znaczenia dla patogenezы glejaka wielopostaciowego. Dostrzeżone uchybienia, braki czy drobne błędy nie umniejszają ogólnej wartości pracy, która jest bardzo pozytywna.

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Aleksandry Soleckiej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgr Aleksandry Soleckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną przedstawionej rozprawy, pionierskie doniesienia znaczenia Reg-2, niedostępne w danych literaturowych, złożoność zastosowanych modeli badawczych, oraz ilość włożonej pracy w realizację celów pracy doktorskiej wnioskuję o jej wyróżnienie.

27.05.2024.....  
data sporządzenia recenzji

KIEROWNIK  
ZAKŁADU BIOLOGII MEDYCZNEJ  
Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii  
dr hab. n. med. inż. Beata PAJAK  
EMBA, mgr. ANE  
podpis recenzenta