

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ

Pani mgr Zuzanny Burzyńskiej

pt.:

**Rola Angiotensyny II w modulacji proliferacji oraz migracji komórek
nowotworowych błony śluzowej macicy**

Promotor: dr hab. n. med. Agnieszka Piastowska-Ciesielska.

**Praca wykonana w Pracowni Hodowli Komórkowych i Analiz
Genomowych w Zakładzie Endokrynologii Porównawczej, Uniwersytetu
Medycznego w Łodzi**

Oceniana praca doktorska jest w postaci zbioru trzech tematycznie spójnych artykułów naukowych, opublikowanych w latach 2015-2018 w czasopismach o międzynarodowym zasięgu i współczynniku oddziaływania IF od 1,413 do 2,959. Sumaryczny wskaźnik Impact Factor ISI cyklu publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi: 7,034. W dwóch publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem natomiast w jednej publikacji wchodzącej w skład cyklu drugim. Dołączone w pracy doktorskiej oświadczenia Współautorów publikacji potwierdzają znaczącą rolę Pani Magister w realizację tematyki badawczej pracy doktorskiej, zaproponowanej przez Promotora Panią dr hab. n. med. Agnieszkę Piastowską-Ciesielską.

Do każdej publikacji Doktorantka przygotowywała przegląd literaturowy, przeprowadzała badania, przygotowywała i edytowała tekst publikacyjny.

Z przekonaniem stwierdzam, że publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej są bardzo dobrze zaplanowane. Ponadto, zakres badań, dyskusja oraz wnioski w nich przedstawione są na wysokim poziomie pod względem merytorycznym jak i edytorskim. Taka forma rozprawy doktorskiej jest zgodna z Ustawą z dnia 14 marca 2003 stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (D.U.2017, poz. 1789) .

Układ pracy

Przedstawiona do oceny praca doktorska Pani mgr Zuzanny Burzyńskiej napisana jest bardzo starannie i składa się z 53 stron. Zawiera ona zwięzłe rozdziały-komentarze takie jak: streszczenie, summary, wykaz publikacji, cel pracy, metodologia, wyniki, wnioski, literatura, pełnotekstowe publikacje oraz oświadczenia współautorów.

W posumowaniu mogę stwierdzić, że struktura pracy doktorskiej nie budzi moich zastrzeżeń, gdyż w ocenianej pracy doktorskiej – komentarzu do cyklu publikacji są wszystkie niezbędne rozdziały, jednak zmieniałabym nieznacznie kolejność rozdziałów (np. streszczenie w końcowej części pracy doktorskiej). Jestem przekonana, że dla Potencjalnego Czytelnika korzystniejsze byłoby rozpoczęcie pracy od Wstępu, oczywiście jest to tylko moja sugestia.

Wstęp pracy

Autorka napisała go w sposób przejrzysty i zapoznaje Czytelnika z trudną tematyką związaną z rolą angiotensyny II (AngII), jej receptorów oraz receptora androgenowego w procesie nowotworzenia błony śluzowej macicy. Autorka w pierwszych zdaniach tego rozdziału przedstawia dane epidemiologiczne nowotworu trzonu macicy (nowotwór błony śluzowej macicy - endometrium). W 2015 roku w Polsce aż 1690 kobiet zmarło z powodu raka trzonu macicy, co stanowi 3,8% wszystkich zgonów spowodowanych nowotworami wśród kobiet. Analizując dane epidemiologiczne, możemy wnioskować, że realizowana przez Doktorantkę trudna tematyka badawcza jest bardzo istotna z punktu widzenia poznawczego, metodologicznego czy patofizjologicznego.

W dalszych zdaniach *Wstępu pracy* Autorka przybliży budowę chemiczną i występowanie w organizmie angiotensyny II, która jest częścią układu renina-angiotensyna-aldosteron, porusza także temat receptorów angiotensynowych I i II.

Bardzo ciekawie, w sposób przystępny dla potencjalnego Czytelnika, niekoniecznie lekarza czy farmaceuty, Pani Magister opracowała wiadomości dotyczące roli, jaką odgrywa układ RAS w organizmie w takich procesach jak: proliferacja, apoptoza, migracja, zapalenie, stres oksydacyjny oraz angiogeneza.

Autorka podkreśla także fakt, że znane są doniesienia naukowe opisujące zmiany w ekspresji peptydów oraz receptorów, należących do układu RAS, w nowotworach takich jak: glejak, rak piersi, jajnika, skóry, szyjki macicy oraz nowotwór gruczołu krokowego.

Rozdział ten jest przedstawiony na trzech stronach i przygotowany został na podstawie przeglądu bieżącej literatury (Autorka cytuje 13 pozycji) oraz jest komentarzem do przeglądowej publikacji,

opublikowanej w 2015 w międzynarodowym czasopiśmie *Gynecological Endocrinology*. Ten syntetyczny rozdział *Wstępu* jest doskonałym preludium do pracy doświadczalnej wykonywanej w ramach doktoratu i moim zdaniem, jako Recenzenta świadczy o doskonałym teoretycznym przygotowaniu i wysokim zaangażowaniu Doktorantki w proces realizacji pracy.

Cel pracy

Główne cele badawcze ocenianej pracy są bardzo jasno sformułowane i obejmują dwa spójne wątki badawcze. W ramach pierwszego wątku badawczego: Doktorantka przy pomocy swojego Promotora dr hab. n. med. Agnieszki Piastowskiej-Ciesielskiej – wybitnego specjalisty w tym zakresie badań, dokonała oceny wpływu AngII na proliferację oraz migrację/adhezję komórek nowotworowych błony śluzowej macicy. Drugim wątkiem badań określonym, przez Doktorantkę i Panią Promotor było sprawdzenie efektu działania AngII przy deficycie receptora AT1.

Podjęcie przez Doktorantkę wyżej wymienionych wątków badawczych uważam za uzasadnione i bardzo ważne z punktu widzenia zarówno naukowego jak i aplikacyjnego.

Realizując dwa spójne wątki pracy doktorskiej, Pani Magister uzyskała bardzo rzetelne wyniki i można sądzić, że w ich otrzymanie włożyła sporo pracy. O ważności wyników świadczą dwie publikacje w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, a mianowicie: *Oncology Reports* oraz *Journal of Cellular Biochemistry*, czasopisma o wysokim współczynniku oddziaływania około 3,0. Ponadto, pragnę zauważyć, że o celowości tych badań świadczy nie tylko fakt, że zostały one opublikowane w czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania IF ale także, że finansowanie tych badań podjęło się Narodowe Centrum Nauki (projekt UMO-2013/09/B/NZ4/01365).

Ocena metodologii badań i wnioski

Poprawność merytoryczna realizowanych eksperymentów w ramach rozprawy doktorskiej, została zweryfikowana przez niezależnych recenzentów w procesie *peer review*, dlatego też w niniejszej ocenie dokonam analizy innych aspektów.

Szczegółowe zapoznanie się z wynikami przedstawionymi w dwóch publikacjach potwierdziło moje przypuszczenie, że Doktorantka bardzo sprawnie porusza się nie tylko w trudnej metodyce badań biologicznych m.in. z liniami komórkowymi, ale także w obszarze statystyki, gdyż perfekcyjnie oceniła statystycznie zamieszczane w publikacjach wyniki. Każda publikacja dostarcza nowych informacji dotyczącej udziału angiotensyny jej receptora w procesie nowotworzenia. Doktorantka w publikacjach, nie tylko przedstawiła swoje wyniki

ale także przeprowadziła bardzo dojrzałą pod względem naukowym i merytorycznym dyskusję swoich badań oraz sprecyzowała wnioski.

Pierwsza publikacja zawiera wyniki, które otrzymała Doktorantka realizując badania na trzech liniach komórkowych raka błony śluzowej macicy, które poddawała działaniu AngII w różnych stężeniach przez 72 godziny. Grupę kontrolną stanowiły komórki niepoddawane działaniu AngII. Autorka w swoich badaniach stosowała linie komórkowe MFE296, MFE280 pozyskane z repozytorium *European Collection of Cell Cultures*.

Podczas badań, Pani mgr Zuzanna Burzyńska oceniała m.in. proliferację komórek (wykorzystując test WST-1, mierzący aktywność oksydacyjną mitochondriów), apoptozę, cykl komórkowy, migrację (za pomocą testu migracji komórek w monowarstwie), adhezję, ekspresję genów itd. Szczegółowe wyniki Doktorantka przedstawiła i omówiła w publikacji „*Angiotensin II promotes endometrial cancer cell survival*”.

Do największych osiągnięć Doktorantki, z tej części badań, moim zdaniem, zaliczyć należy m.in., że angiotensyna II może indukować proliferację, redukować apoptozę, zwiększać migrację oraz modulować adhezję komórek raka błony śluzowej macicy czyli może być spostrzegana jako czynnik stymulujący dla komórek nowotworowych endometrium. Drugi etap związany był z badaniem wpływu aktywność receptora angiotensyny AT1 na działanie AngII w komórkach raka błony śluzowej macicy. Badania Doktorantki obejmowały m.in. obserwację: wyciszenia receptora AT1 w badanych liniach raka błony śluzowej macicy na poziomie genowym (metoda RT-qPCR) oraz białkowym (metoda Western blot).

Wyniki szczegółowo Doktorantka przedstawiła i omówiła w manuskrypcie: „*Silencing of AT1R interfere with the AngII oncogenic activity in endometrial cancer*”.

Autorka w swoich badaniach potwierdziła udział receptora AT1R w rozwoju nowotworu endometrium podobnie jak w rozwoju nowotworu piersi, a efekt jaki wywołuje Angiotensyna II na komórki o zredukowanej ekspresji AT1R zależy od stopnia ich zróżnicowania oraz dawki peptydu.

Uważam, że wnioski te bardzo dobrze odzwierciedlają najistotniejsze elementy naukowe i poznawcze pracy badawczej. Jestem przekonana, że Doktorantka w pełni zrealizowała zaplanowany program badań, a uzyskane przez nią wyniki zawierają elementy nowości naukowej. Na szczególną uwagę zasługuje profesjonalizm badawczy Doktorantki, który zapewnił wysoką jakość i rzetelność wyników.

Na zakończenie mojej oceny jeszcze raz podkreślę, że Doktorantka w załączonym zbiorze publikacji potwierdziła swoją znajomość zagadnień związanych z przedmiotem badań

realizowanych w ramach pracy doktorskiej oraz umiejętność prawidłowej interpretacji wyników, będących efektem przeprowadzonych eksperymentów. Jestem przekonana, że wymagało to od Pani mgr Zuzanny Burzyńskiej uzyskania wielokierunkowej wiedzy z zakresu biologii, fizjologii, patofizjologii, diagnostyki, metod biologii molekularnej czy metod do oceny ekspresji genów.

Reasumując, nie mam żadnych wątpliwości, że rozprawa doktorska Pani mgr Zuzanny Burzyńskiej jest pracą nowatorską i wartościową i wnosi elementy poznawcze w zakresie tematyki – nowotworu trzonu macicy, czyli spełnia ustawowe wymagania stawiane pracom doktorskim.

Wnioskuje do Wysokiej Rady Wydziału Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego w Łodzi o kontynuowanie dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje także do Wysokiej Rady Wydziału Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego w Łodzi o wyróżnienie pracy.

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej

Beata Stanis
Dr hab. n. farm. Beata Stanis prof. UM