



Wojewódzki Szpital im. Św. Ojca Pio w Przemyślu

PAN - Instytut Immunologii
Wpl. dnia 13.08.2024
L.dz. 373



Prof. dr hab. med. Grzegorz Raba
Kierownik Klinicznego Oddziału Ginekologii i Położnictwa
z Pododdziałem Ginekologii Onkologicznej
Uniwersytet Rzeszowski

Przemyśl 30.07.2024

**Recenzja Rozprawy Doktorskiej mgr Agnieszki Szyposzyńskiej
z tytułu: „Wpływ pęcherzyków zewnątrzkomórkowych pochodzących
z mezenchymalnych komórek macierzystych na zahamowanie aktywności
biologicznej nowotworowych komórek macierzystych raka jajnika”**

Nabłonkowy rak jajnika jest nowotworem złośliwym o złym rokowaniu występującym u kobiet głównie w wieku około i pomenopauzalnym. Zapadalność na raka jajnika wynosi 11,2/100 000. Rocznie w Polsce notuje się ponad 3000 nowych zachorowań. Według danych z 2011 rak jajnika zajmuje drugie miejsce co do częstości występowania wśród nowotworów narządu rodowego (po raku trzonu macicy). Zachorowalność rośnie gwałtownie w 5. dekadzie życia i sukcesywnie wzrasta do 8. dekady. Brak skriningu oraz początkowo bezobjawowy okres rozwoju choroby sprawia, że większość przypadków rozpoznawana jest w III lub nawet IV stopniu zaawansowania klinicznego, co jest główną przyczyną złego rokowania. Okres pięciu lat od rozpoznania raka jajnika przeżywa mniej niż połowa kobiet dotkniętych tą chorobą. Przedstawione powyżej dane wskazują jak poważnym problemem zarówno medycznym jak i społecznym jest rak jajnika, co w pełni uzasadnia tematykę rozprawy podjętą przez Doktorantkę.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska stanowi syntezę cyklu trzech prac opublikowanych w wysoko impaktowanym, wiodącym czasopiśmie naukowym, w których doktorantka jest pierwszym autorem.

Publikacje stanowiące cykl prac niniejszej rozprawy są zwieńczeniem badań których celem było poznanie w warunkach doświadczalnych mechanizmów aktywności proliferacyjnej oraz śmierci komórek

www.wszp.pl

ul. Monte Cassino 18, 37-700 Przemyśl
tel./centrala: (16) 677-50-00
tel./sekretariat: (16) 677-50-01, (16) 677-50-02
fax: (16) 677-50-03
e-mail: sekretariat@wszp.pl

NIP: 795-20-66-984
REGON: 000314684, KRS: 0000057847
R - ZOZ: 18 - 00233
Nazwa Banku i nr konta:
Podkarpacki Bank Spółdzielczy 07 8642 1155 2015 1500 5283 0001



raka jajnika w relacji z mezenchymalnymi komórkami macierzystymi. Dla osiągnięcia głównego celu pracy, Doktorantka zrealizowała 6 celów szczegółowych:

- 1) Scharakteryzowała mediatory komunikacji komórka- komórka, tj.: egzosomy i mikropęcherzyki (MVs), pochodzące z unieśmiertelnionych mezenchymalnych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej (HATMSC2-MVs)
- 2) Oceeniła wpływ powyższych mediatorów (HATMSC2-MVs) na aktywność biologiczną komórek linii raka jajnika ES-2 i OAW-42.
- 3) Scharakteryzowała pierwotne komórki raka jajnika pochodzące z tkanki pooperacyjnej oraz płynu otrzewnowego.
- 4) Oceeniła wpływ mikropęcherzyków pochodzących z unieśmiertelnionych mezenchymalnych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej (HATMSC2-MVs) na aktywność biologiczną pierwotnych komórek raka jajnika w modelu 2D i 3D.
- 5) Dokonała analizy obecności białek proapoptotycznych i antyapoptotycznych w unieśmiertelnionych mezenchymalnych komórkach macierzystych z tkanki tłuszczowej (HATMSC2).
- 6) Oceeniła fenotyp oraz właściwości biologiczne komórek pierwotnych raka jajnika izolowanych z płynu otrzewnowego i pochodzących z nich unieśmiertelnionych linii komórkowych.

Wszystkie cele szczegółowe zostały zrealizowane i wyniki zostały przedstawione w 3 pracach wskazanych jako cykl publikacji. Uwagę recenzenta zwraca fakt, że wszystkie 3 publikacje ukazały się w jednym czasopiśmie, tj: *International Journal of Molecular Sciences*.

Głównym osiągnięciem badawczym prezentowanej dysertacji jest przedstawienie dowodów na hamowanie proliferacji komórek raka jajnika linii OAW-42 oraz śmierci na drodze apoptozy komórek linii ES-2 i OAW-42, przez egzosomy i mikropęcherzyki pochodzące z unieśmiertelnionych mezenchymalnych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej (HATMSC2-MVs). Ma to prawdopodobnie związek z wykazaniem wzrostem wydzielania przez komórki nowotworowe czynników hamujących wzrost nowotworów (w tym: IL-2, IL- 15, IFN- gamma), wskutek internalizacji HATMSC2-MVs do komórek linii raka jajnika.

Doktorantka wykazała, że obniżenie aktywności metabolicznej badanych linii komórek raka jajnika pod wpływem działania HATMSC2-MVs utrzymuje się pomimo heterogenności populacji komórek raka

www.wszp.pl



pod względem analizowanych markerów CD i innych wskazanych w rozprawie. Podobnie, wykazała indukcję śmierci pierwotnych komórek raka jajnika w modelu 2D i 3D co z dużym prawdopodobieństwem uzasadniła zwiększoną ekspresją czynników proapoptotycznych transportowanych przez HATMSC2-MVs.

Niezależnie od wymienionych osiągnięć wynikających z przeprowadzonych badań, Doktorantka wykazała, że plazmid niosący gen hTERT może być wykorzystywany do unieśmiertelniania pierwotnych komórek raka jajnika przy zachowaniu fenotypu komórek pierwotnych. Ma to duże znaczenie poznawcze i może być wykorzystywane w dalszych badaniach.

Wiedza i doświadczenie zawodowe jakim Pani mgr Agnieszka Szyposzyńska wykazała się w trakcie realizacji prezentowanych badań laboratoryjnych są bezdyskusyjne i budzą szczerze uznanie recenzenta. Jednak poczuwając się do obowiązku recenzenta zwracam uwagę na błędy we wprowadzeniu, w którym to Doktorantka przybliży czytelnikowi problem raka jajnika:

1. Na str. 3 Doktorantka przedstawia zarzucony wspólnie podział kliniczno- patologiczny raka jajnika na typ I (występujący jednostronnie o niskim stopniu złośliwości i dobrym rokowaniu), oraz typ II (o wysokim stopniu złośliwości charakteryzujący się zajęciem obu jajników i złym rokowaniem). Aktualnie wyróżnia się typy raka jajnika: Low-grade i High-grade. Podział ten nie ma nic wspólnego z klinicznym zajęciem jednego, czy dwóch jajników. Manifestacja kliniczna (jednego jajnika, dwóch, całego narządu rodnoego lub pozostałych narządów jamy otrzewnowej) nie zależy od typu histopatologicznego Lo-grade lub High-grade, ale od stopnia zaawansowania klinicznego.
2. W dalszej części Doktorantka opisuje odmianę raka śluzowego, podając jako jego cechę charakterystyczną: cyt." składa się z komórek łagodnych i złośliwych". Stwierdzam, iż fakt współistnienia komórek łagodnych i złośliwych w tkance guza raka jajnika dotyczy wszystkich typów nabłonkowych raków jajnika.
3. W dalszej części, niepotrzebnie w opinii Recenzenta, wspomina Doktorantka o łagodnym guzie jajnika: torbielako-gruczolako-włókniaku. Guz ten nie jest rakiem (o czym pisze w pracy sama Doktorantka), jest jednym z licznych nowotworów łagodnych jajnika i nie ma związku z rakiem jajnika – podmiotem niniejszej Dysertacji.
4. W dalszej części Doktorantka pisze, cyt.: „Około 5% chorych na nowotwór jajnika umiera”. Taka umieralność stawiałaby raka jajnika w grupie dobrze rokujących nowotworów. Według danych statystycznych 5 lat przeżywa mniej niż połowa kobiet chorych na raka jajnika.

www.wszp.pl



5. W dalszej części Doktorantka twierdzi, cyt.: „Rak jajnika daje najczęściej przerzuty do wątroby, odległych węzłów chłonnych, płuc, kości i mózgu”. Taka charakterystyka całkowicie pozostaje w sprzeczności z przebiegiem klinicznym raka jajnika. Rak jajnika szerzy się głównie poprzez rozsiew wewnątrztrzewnowy drogą płynu otrzewnowego. Pojawiają się wszczepy na powierzchni otrzewnej pokrywającej narządy jamy brzusznej, które z czasem wrastają w głębsze warstwy. Przerzuty do wątroby, płuc, mózgu są rzadkością (w przeciwieństwie np. do raka trzonu macicy), a przerzuty do kości można uznać wręcz za kazuistykę.
6. Na str. 4 wprowadzenia a także w streszczeniu, Doktorantka prezentuje metodę leczenia, cyt.: „Powszechnie stosowaną metodą jest chemioterapia... z następowym chirurgicznym usunięciem guza”. Takie postępowanie (chemioterapia indukcyjna z następową chirurgią) jest strategią stosowaną jedynie w przypadkach pierwotnego braku resekcyjności guza. Na chwilę obecną podstawą leczenia raka jajnika jest leczenie chirurgiczne. Jedynie pierwotnie radykalny zabieg chirurgiczny połączony z uzupełniającą chemioterapią pooperacyjną daje najdłuższe przeżycia chorych.

Współczesne leczenie raka jajnika opiera się na podtypach molekularnych i charakterystyce genetycznej komórek z tkanki guza. Pozwala to na zastosowanie immunoterapii oraz leczenia antyangiogenego, niezależnie od chemioterapii.

Powyższe uwagi nie zmniejszają jednak wartości merytorycznej pracy, ponieważ istotną i wartościową jej część stanowi część badawcza. Wykazane błędy dotyczyły tzw. części teoretycznej, wprowadzającej czytelnika w problematykę raka jajnika i można ją łatwo poprawić w oparciu o szeroko dostępne piśmiennictwo, lub całkowicie usunąć z Dysertacji – co nie zmniejszy jej wartości naukowej.

Jako drobną uwagę edytorską, proponuję umieścić w pracy wykaz skrótów, ponieważ szeroko stosowane w pracy skróty stanowią wysokospecjalistyczną nomenklaturę. Umożliwiłoby to czytelnikowi szybsze zrozumienie treści.

Podsumowanie dorobku naukowego wynikającego z przedstawionego cyklu prac Doktorantka zawarła na 3 stronach zwięzłej syntezy, opisanej językiem zrozumiałym dla czytelnika spoza grona ekspertów w dziedzinie immunologii i biologii molekularnej. Jest to bardzo cenna umiejętność u naukowca, ponieważ ułatwia współpracę interdyscyplinarną a tym samym poszerza horyzonty naukowe.

www.wszp.pl



Wojewódzki Szpital im. Św. Ojca Pio w Przemyślu



Przedstawione mi do recenzji badania są nowatorskie i wnoszą istotny wkład w poznanie biologii raka jajnika. Magister Agnieszka Szyposzyńska wykazała się umiejętnością zaplanowania, przeprowadzenia badań oraz dokonania syntezy uzyskanych wyników. Prawidłowo zinterpretowała wyniki i wyciągnęła wnioski. Przedstawiona mi Rozprawa Doktorska jest oryginalnym osiągnięciem Kandydatki.

Praca mgr Agnieszki Szyposzyńskiej zatytuowana: **„Wpływ pęcherzyków zewnątrzkomórkowych pochodzących z mezenchymalnych komórek macierzystych na zahamowanie aktywności biologicznej nowotworowych komórek macierzystych raka jajnika”** spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz.U. 2023 poz. 742 z późn.zm.). Wobec powyższego wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN o nadanie mgr Agnieszce Szyposzyńskiej stopnia doktora nauk ścisłych i przyrodniczych.

3174577
KIEROWNIK
Klinicznego Oddziału Ginekologiczno-Położniczego
z Pododdziałem Ginekologii Onkologicznej
prof. dr hab. n. med. Grzegorz Raba

www.wszp.pl

ul. Monte Cassino 18, 37-700 Przemyśl
tel./centrala: (16) 677-50-00
tel./sekretariat: (16) 677-50-01, (16) 677-50-02
fax: (16) 677-50-03
e-mail: sekretariat@wszp.pl

NIP: 795-20-66-984
REGON: 000314684, KRS: 0000057847
R - ZOZ: 18 - 00233
Nazwa Banku i nr konta:
Podkarpacki Bank Spółdzielczy 07 8642 1155 2015 1500 5283 0001