



# UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra Onkologii

Klinika Onkologii Ginekologicznej

dr hab. Jolanta Szelachowska

Kierownik

Wrocław, 24 grudnia 2018 r.

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej  
mgr Diany Papiernik pt.:

### **Rola białka wiążącego retinol typu 4 (RBP4) w angiogenezie i przerzutowaniu nowotworów gruczołu sutkowego.**

Przedstawiona do recenzji dysertacja liczy 213 stron i ma klasyczny układ dla opracowań naukowych. Zawiera dziewięć rozdziałów, skorowidz skrótów oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Piśmiennictwo jest odpowiednio dobrane i cytowane. Tekst zilustrowany jest siedemdziesięcioma dziewięcioma rycinami i trzydziestoma dwoma tabelami, które są doskonałej jakości i znakomicie ilustrują wyniki. Część graficzna pracy przygotowana jest znakomicie.

**Wstęp**, liczący 28 stron, napisany jest w sposób przystępny i dydaktyczny. Jego pierwsza część stanowi syntezę najnowszych poglądów dotyczących kancerogenezy i epidemiologii chorób nowotworowych ze szczególnym zwróceniem uwagi na raka piersi. W kolejnej części autorka omawia zagadnienia dotyczące powstawania przerzutów nowotworowych i angiogenezy. Następnie charakteryzuje będące przedmiotem badania białko RBP4 i jego potencjalny wpływ na angiogenezę i powstawanie przerzutów. W ten sposób Doktorantka wprowadza nas w najważniejsze zagadnienia, które są niezbędne do zrozumienia treści prezentowanych w dalszych częściach pracy doktorskiej.

Doskonała znajomość najnowszej literatury światowej dotyczącej badanego problemu pozwoliła Doktorantce sformułować ambitny **cel pracy**. Został on jednoznacznie i rzeczowo sprecyzowany. Celem było określenie w modelach mysich raków gruczołu sutkowego wpływu RBP4 na:

- 1) dysfunkcję śródbłonka towarzyszącą chorobie nowotworowej
- 2) tworzenie nowych naczyń w guzie pierwotnym
- 3) proces powstawania wtórnych ognisk nowotworowych w 5 punktach.

Rozdział dotyczący **materiału i metod** zajmuje 46 stron i szczegółowo, krok po kroku, przedstawia realizację przeprowadzonego badania. Niezwykle rzetelnie zostały omówione linie komórkowe, badane zwierzęta i zastosowane na nich testy, techniki badań, schematy postępowania, oraz analizy statystyczne. Na uwagę zasługuje fakt, iż Doktorantka poprzez transfekcje komórek 67NR i 4T1 uzyskała nowy model doświadczalny z nadekspresją RBP4, który wykorzystwała do dalszych badań.

Na kolejnych 50 stronach doktorantka przedstawia wielowątkowe **wyniki badań**. Rozdział ten jest wzbogacony licznymi rycinami znakomicie ilustrującymi uzyskane dane. Ilość zgromadzonych wyników stanowi dowód rzetelnej i wręcz benedyktyńskiej pracy wykonanej przez Doktorantkę, co budzi najwyższe uznanie.

Na kolejnych 24 stronach autorka przeprowadza **dyskusję** wyników własnych porównując je i odnosząc do innych opublikowanych prac. Dyskusja została oparta o najnowsze doniesienia naukowe i jest, podobnie jak wstęp pracy, merytoryczna. Autorka wyczerpująco, w sposób wskazujący na dojrzałość naukową, przeanalizowała uzyskane wyniki oraz zaprezentowała własne opinie i sugestie odnosząc się do badań innych autorów. Rozdział ten świadczy o dużej wiedzy Autorki.

Na podstawie przeprowadzonych badań i statystycznej analizy otrzymanych wyników Kandydatka sformułowała 4 **wnioski**, które stanowią odpowiedź na ustalone wcześniej cele pracy. Wnioski są wyważone i w sposób logiczny wynikają z przeprowadzonych badań.

Autorka stwierdziła, że RBP4 oddziałuje zarówno na komórki śródbłonka, jak i na komórki nowotworowe stymulując powstawanie przerzutów. RBP4 poprzez uszkodzenie śródbłonka naczyniowego prowadzi do sekrecji białek proangiogennych, a wykształcenie się sieci gęstych przepuszczalnych naczyń ułatwia komórkom nowotworowym przejście do krążenia. Ponadto, jako pierwsza, Doktorantka wykazała, że nadekspresja RBP4 w komórkach nowotworowych promuje proces przerzutowania. Na podstawie przeprowadzonych testów ustaliła że dzieje się tak prawdopodobnie poprzez zwiększenie ich zdolności inwazyjnych i kolonizacyjnych. Dodatkowo porównując poziom RBP4 w materiale pobranym od zdrowych kobiet i pacjentek chorujących na raka piersi ustaliła że jest on potencjalnym markerem tej choroby.

Ponieważ RBP4 przyczynia się do przerzutowania, a jego poziom wzrasta już we wczesnej fazie rozwoju nowotworu to wykazuje on duży potencjał, aby stać się użytecznym czynnikiem prognostycznym w diagnostyce raka piersi. To spostrzeżenie Autorki zasługuje na szczególną uwagę. Z pewnością po potwierdzeniu kolejnymi badaniami wyników uzyskanych przez Doktorantkę białko to powinno zostać wzięte

pod uwagę nie tylko jako potencjalny marker raka piersi, ale również cel dla nowych terapii przeciwnowotworowych.

Przedstawioną Rozprawę oceniam bardzo wysoko. Niewątpliwie przyczynia się ona do lepszego poznania mechanizmów regulujących proces angiogenezy i tworzenia przerzutów oraz poszerza naszą wiedzę dotyczącą roli białka RBP4 w progresji nowotworów. Istotne jest uzyskanie komplementarnych wyników nie tylko w badaniach na liniach komórkowych i zwierzętach, ale również wstępna weryfikacja u pacjentek chorych na raka piersi. W mojej ocenie niniejszą rozprawę cechuje nie tylko istotny aspekt poznawczy ale, co najważniejsze, również kliniczny. Badania przeprowadzone przez Autorkę dotyczą jednego z najczęściej występujących nowotworów u ludzi, który pomimo coraz skuteczniejszych metod leczenia wciąż powoduje liczne zgony. Skuteczna walka z takim przeciwnikiem wymaga bardzo dokładnego poznania mechanizmów na skutek których nowotwór ten rozwija się i wymyka naszym działaniom. Dlatego tak istotne jest prowadzenie takich badań, poszerzanie wiedzy dotyczącej molekularnych podstaw progresji nowotworów, poszukiwanie nowych czynników prognostycznych i predykcyjnych będących celem dla nowych metod terapeutycznych.

Z obowiązku recenzenta, po szczegółowej lekturze pracy, pozwalam sobie przedstawić parę uwag, w żaden jednak sposób nie umniejszających wartości pracy.

Rycina 3.8 na stronie 78 przedstawia schemat doświadczenia ortotopowego z wykorzystaniem nowych modeli badawczych z nadekspresją RBP4. Niestety nie spostrzegłam na tym schemacie tak oznaczonych myszy. Prawdopodobnie jest to skutkiem pomyłki edytora, gdyż poniżej bardzo drobnym drukiem, myszy są już prawidłowo opisane.

W tabeli 3.11 na stronie 62 prawdopodobnie jest pomyłka w charakterystyce linii komórkowej 67NR puro i 4T1 puro. Jest to niewielkie uchybienie być może wynikające z zastosowania w edycji metody kopiuj wklej.

Na stronie 79 zdanie znalazłam nie zrozumiałe dla mnie zdanie: „Płuca myszy, którym podano jedynie RBP4 w stężeniu 500ng/mysz stanowiła kontrolę dla RBP4” . Czy autorka może wyjaśnić co to znaczy?

Ponadto proponuję ujednoczyć oznaczenie linii komórkowych mysiego raka sutka z białkiem fluorescencyjnym iRFP670, gdyż na stronie 62 w tabeli 3.11 oznaczone są one jako 67NR IR i 4T1 IR, na stronie 79 na rycinie 3.9 jako 67NR-IR i 4T1-IR, a na stronie 81 w tabeli 3.22 jako 67NR-iRFP i 4T1-iRFP.

Na stronie 101 autorka niewątpliwie popełniła kolejny błąd edytorski pisząc: „Linie nieprzerzutujące charakteryzowały się większą ekspresją receptorów hormonalnych w porównaniu do linii nieprzerzutującej.” Proponuję przed publikacją poprawić ten i inne błędy literowe i edytorskie. Jedyne czego brakuje w tej pracy to

informacji w rozdziale **Materiał i metody** o liczebności badanych grup myszy oraz liczby i charakterystyki pacjentek i kobiet zdrowych włączonych do analizy.

Niezależnie od tych drobnych uwag i pytań skierowanych do Doktorantki, przedstawioną dysertację oceniam bardzo wysoko. Moim zdaniem zasługuje ona na wyróżnienie, przede wszystkim z uwagi na wagę poruszonego tematu, szeroki panel badań przeprowadzonych przez Doktorantkę oraz potencjalne implikacje kliniczne uzyskanych wyników. Niniejsza praca dostarcza ważnych odpowiedzi na pytania dotyczące wpływu białka RBP4 na proces angiogenezy i powstawania przerzutów w raku gruczołu sutkowego.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że Doktorantka potrafi samodzielnie sformułować i rozwiązać problem naukowy, właściwie dobrać techniki badawcze, a także prawidłowo przeprowadzić dyskusję otrzymanych wyników. Przedstawioną pracą jednoznacznie udowadnia, że posiada zdolności do prowadzenia dalszych samodzielnych badań naukowych.

Według mnie rozprawa doktorska Pani magister Diany Papiernik pt.: „Rola białka wiążącego retinol typu 4 (RBP4) w angiogenezie i przerzutowaniu nowotworów gruczołu sutkowego” spełnia kryteria rozprawy naukowej określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595, z późn. Zm).

W związku z tym zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda o dopuszczenie Pani Diany Papiernik do dalszych etapów przewodu doktorskiego

Z wyrazami szacunku

