



**UNIwersYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**
Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Histologii i Embriologii
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz
tel. 52 585 37 25

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RADY DYSZYPLINY
NAUKI MEDYCZNE

wpl.
dnia: **06-07-2023**
L. dz. RN-BM/ **1205**

Uniwersytet Medyczny
we Wrocławiu



RPW/11368/2023 N
Data:2023-07-06

Bydgoszcz, dn. 29.06.2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Ekspresja iryzyny w rakach gruczołu piersiowego”

autorstwa lek. Kamila Cebulskiego

realizowana w Katedrze Morfologii i Embriologii Człowieka
Zakładzie Histologii i Embriologii
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

promotor: prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okolów

promotor pomocniczy: dr Katarzyna Nowińska

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska na stopień doktora nauk medycznych pt. „Ekspresja iryzyny w rakach gruczołu piersiowego” porusza niezwykle ciekawe merytorycznie i potrzebne w dziedzinie nauk medycznych zagadnienia dotyczące poszukiwania potencjalnych markerów rokowniczych chorób nowotworowych. Warto podkreślić, że badania ujęte w rozprawie doktorskiej lek. Kamila Cebulskiego zostały zrealizowane w ramach dofinansowania projektu badawczego z Regionalnej Inicjatywy Doskonałości.

Rozprawa autorstwa lek. Kamila Cebulskiego ma charakter eksperymentalny i jest zbiorem 2 powiązanych tematycznie prac naukowych opublikowanych w czasopiśmie International Journal of Molecular Sciences. Sumaryczny IF cyklu zgodny z rokiem publikacji jest równy 12.416 oraz 280 pkt. wg MEiN. Praca obejmuje 66 stron i ma właściwy układ w zakresie komentarza do opublikowanych prac naukowych. W rozprawie doktorskiej ujęto kolejno: „Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską”, „Wprowadzenie”, „Założenia i cel pracy”, „Streszczenie”, „Summary”, „Publikacje”, „Podsumowanie i wnioski”. Rozprawa została uzupełniona o „Załączniki”, które stanowią „Oświadczenia współautorów publikacji stanowiących podstawę pracy doktorskiej”.

Część merytoryczną rozprawy rozpoczyna krótkie „Wprowadzenie”, które zostało oparte o poprawnie dobrane i aktualne piśmiennictwo z zakresu tematyki badawczej. Rozdział ten jest zrozumiały i wprowadza czytelnika do lektury prac naukowych stanowiących trzon rozprawy doktorskiej. Czytelne przedstawienie złożoności problemu badawczego świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktoranta w zakresie obranej tematyki badawczej i uwzględnia charakterystykę częstości występowania raka gruczołu piersiowego, białka FNDC5 oraz iryzyny, w tym jej udział w procesach fizjologicznych i patologicznych. „Wprowadzenie” obejmuje również zwięzły opis procesu przejścia epitelialno-mezenchymalnego, a także omówienie znaczenia iryzyny w rakach gruczołu piersiowego na podstawie dostępnej literatury światowej. W kontekście tego, Doktorant słusznie wskazał brak spójności wyników różnych grup badawczych oraz złożoność problemu naukowego, przez co potwierdził zasadność przeprowadzenia badań będących przedmiotem publikacji stanowiących trzon przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej.

Nadrzędnym celem przeprowadzonych badań było określenie zależności pomiędzy poziomem ekspresji iryzyny a rakiem gruczołu piersiowego. Celem publikacji nr 1 było określenie lokalizacji i nasilenia ekspresji iryzyny w rakach gruczołu piersiowego, a także zbadanie jej związku z danymi kliniczno-patologicznymi (m.in. stopniem złośliwości histologicznej, stadium zaawansowania, skalą TNM, przeżyciami pacjentów) oraz markerami proliferacji (Ki-67) i biogenezy mitochondriów (PGC-1 α). Cel publikacji nr 2 dotyczył zbadania związku iryzyny z procesem przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT) w raku gruczołu piersiowego, a także potwierdzenia metodami immunofluorescencji, RT-PCR i immunogold obecności iryzyny zarówno w materiale raka gruczołu piersiowego, jak i w liniach komórkowych raka gruczołu piersiowego.

Zasadniczą część badań ujętych w pracach stanowiących podstawę do przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej przeprowadzono na materiale tkankowym obejmującym bloczki parafinowe (541 z fragmentami guzów raka gruczołu piersiowego i 61 mastopatii jako materiału kontrolnego) oraz materiał mrożeniowy (40 z fragmentami guzów raka gruczołu piersiowego, 40 marginesów guza i 16 mastopatii), który stanowił materiał archiwalny Zakładu



Histologii i Embriologii Katedry Morfologii i Embriologii Człowieka Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu pod kierownictwem prof. dr hab. Piotra Dzięgiela. Do badań wykorzystano również linie komórkowe w postaci nieśmiertelnionych komórek gruczołu piersiowego o nabłonkowo-podobnej morfologii, które wyprowadzono od pacjentki bez historii raka gruczołu piersiowego (Me16c) oraz z raka gruczołu piersiowego (MCF-7, MDA-MB-231 oraz MDA-MB-468). Na przeprowadzenie badań uzyskano zgody właściwej komisji bioetycznej (KB-726/2019 i KB-731/2019).

Pierwszą publikację cyklu stanowi praca pt. „Expression of Irisin/FNDC5 in Breast Cancer”, która ukazała się w 2022 roku na łamach International Journal of Molecular Sciences (doi: 10.3390/ijms23073530). Warto podkreślić, że na dzień sporządzenia recenzji pracę zacytowano 5-krotnie wg Web of Science (4-krotnie pomijając autocytowanie) oraz 6-krotnie wg Google Scholar (5-krotnie pomijając autocytowanie). Zgodnie z oświadczeniem lek. Kamila Cebulskiego, wkład Doktoranta w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu oceny immunohistochemicznej materiału badanego, współuczestnictwie w wykonaniu badań RT-PCR, analizie statystycznej, przygotowaniu pracy oraz korekcie przed złożeniem do druku. Załączone oświadczenia o merytorycznym wkładzie pozostałych współautorów pracy nie budzą zastrzeżeń i potwierdzają wysoki wkład merytoryczny Doktoranta w powstanie niniejszej publikacji naukowej. Do najistotniejszych wyników zaprezentowanych w pracy należą: (1) wykazanie istotnie wyższego poziomu ekspresji iryzyny w rakach gruczołu piersiowego, (2) wykazanie istotnie niższego poziomu ekspresji iryzyny u pacjentek z przerzutami do węzłów chłonnych w porównaniu do pacjentek bez przerzutów, (3) wykazanie istotnie niższej ekspresji iryzyny w guzach o rozmiarze 10-20 mm (T1c) w porównaniu do guzów o rozmiarze do 10 mm (T1a-b), (4) wykazanie istotnie niższej ekspresji w stadium II w porównaniu do stadium I, oraz (5) wykazanie zależności pomiędzy ekspresją iryzyny a całkowitym czasem przeżycia pacjentek, gdzie pacjentki z wyższym poziomem iryzyny charakteryzowały się istotnie dłuższym czasem przeżycia. W kontekście analizy długości przeżycia pacjentek wobec ekspresji iryzyny nie znalazłem informacji o metodologii stratyfikacji poziomu ekspresji weryfikowanej techniką immunohistochemiczną, a także dotyczących wyznaczenia punktu odcięcia. W pracy (6) wykazano również, istotnie statystycznie dodatnie korelacje pomiędzy poziomem ekspresji iryzyny a poziomami ekspresji

czynnika transkrypcyjnego PGC-1 α oraz antygenu Ki-67. W komentarzu do pracy nie wyodrębniono z publikacji wyników dotyczących ekspresji *FNDC5* na poziomie mRNA, w tym pokazujących brak istotności statystycznej pomiędzy poziomem mRNA *FNDC5* w rakach gruczołu piersiowego a mastopatią oraz wskazujące na istotnie wyższą ekspresją mRNA *FNDC5* w marginesie guza w porównaniu do raków gruczołu piersiowego i mastopatii. Nie uwzględniono również informacji o istotnie niższym poziomie ekspresji mRNA *FNDC5* u pacjentek z przerzutami do węzłów chłonnych.

Drugą publikację cyklu stanowi praca pt. „The Role of Irisin/*FNDC5* Expression and Its Serum Level in Breast Cancer”, która ukazała się w 2023 roku również na łamach *International Journal of Molecular Sciences* (doi: 10.3390/ijms24108628). Na dzień sporządzenia recenzji, publikacja nie została jeszcze zacytowana opierając się o dane pochodzące z baz Web of Science oraz Google Scholar. Jednakże od daty ukazania się pracy, tj. 11.05.2023, publikację pobrano ponad 700-krotnie. Zgodnie z oświadczeniem, wkład Doktoranta w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu oceny immunohistochemicznej materiału badanego, współuczestnictwie w wykonaniu badań molekularnych, analizie statystycznej, przygotowaniu manuskryptu, a także korekcie przed złożeniem pracy do druku. Załączone oświadczenia o merytorycznym wkładzie pozostałych współautorów pracy nie budzą zastrzeżeń i podobnie jak w przypadku pracy nr 1 potwierdzają wysoki wkład merytoryczny Doktoranta w powstanie niniejszej publikacji naukowej. Prace oceniam bardzo wysoko z uwagi na wykorzystanie interdyscyplinarnego warsztatu badawczego oraz świadome odwołanie się do wyników zaprezentowanych w poprzedniej pracy, co wskazuje na dużą dojrzałość Doktoranta i konsekwentność w dążeniu do wyjaśnienia problemu naukowego. Do najistotniejszych wyników zaprezentowanych w publikacji leżą: (1) wykazanie istotnej statystycznie dodatniej korelacji poziomu ekspresji E-kadheryny oraz cytoplazmatycznej i jądrowej białka SNAIL a poziomem ekspresji iryzyny, (2) wykazanie braku korelacji pomiędzy poziomem ekspresji N-kadheryny a poziomem ekspresji iryzyny, (3) wykazanie istotnej statystycznie dodatniej korelacji pomiędzy poziomami ekspresji cytoplazmatycznej i jądrowej białka SLUG oraz TWIST a poziomem ekspresji iryzyny. W celu potwierdzenia badań immunohistochemicznych ekspresji iryzyny przeprowadzono badania molekularne oraz immunofluorescencyjne na komórkach hodowanych *in vitro*. Wykazano, że



(4) poziom ekspresji mRNA *FNDC5* oraz iryzyny był istotnie niższy w prawidłowych komórkach gruczołu piersiowego (Me16c) w porównaniu do komórek wszystkich badanych linii raka gruczołu piersiowego (MCF-7, MDA-MB-231 oraz MDA-MB-468). W komentarzu do pracy nie wyodrębniono niezwykle ciekawych wyników dotyczących poziomu iryzyny w surowicy krwi oraz ultrastrukturalnej lokalizacji iryzyny metodą immunozłotową.

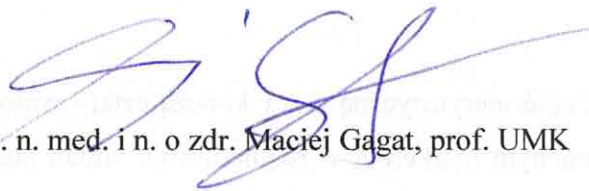
Otrzymane wyniki zostały podsumowane przez Doktoranta w rozdziale „Podsumowanie i wnioski”. Rozdział ten został napisany bardzo rzeczowo, opierając się na najistotniejszych wynikach prac naukowych stanowiących podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej.

Część merytoryczną pracy kończą cztery wnioski: (1) Poziom iryzyny w guzie może być pomocnym markerem w różnicowaniu zmian łagodnych od raka gruczołu piersiowego. (2) Poziom iryzyny w guzie może być markerem predykcyjnym raka gruczołu piersiowego. (3) Poziom iryzyny w guzach może być potencjalnym markerem prognostycznym u pacjentek z rakiem gruczołu piersiowego. (4) Iryzyna może wpływać na proces przejścia epitelialno-mezenchymalnego w raku gruczołu piersiowego. Przedstawione wnioski są spójne zarówno z nadrzędnym celem pracy, jak i poszczególnymi celami szczegółowymi publikacji stanowiących trzon ocenianej przeze mnie rozprawy doktorskiej.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że ujęte w rozprawie prace naukowe są spójne tematycznie i przydatne z punktu widzenia podjętej problematyki badawczej. Doktorant pokazał, że potrafi sformułować i rozwiązać problem naukowy, wykorzystać dostępny i interdyscyplinarny warsztat badawczy, a także szeroko przeanalizować i przedyskutować uzyskane wyniki badań z wynikami opublikowanymi przez inne grupy badawcze. Brak wyodrębnienia wskazanych przeze mnie części prac nie stanowi zarzutu merytorycznego, zwłaszcza, że dotyczy to elementów niezwiązanych bezpośrednio z celem pracy. Stąd jednoznacznie stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Kamila Cebulskiego pt. „Ekspresja iryzyny w rakach gruczołu piersiowego” spełnia wymagania określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule

w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Dlatego wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycze Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Kamila Cebulskiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Ponadto, z uwagi na wysoką wartość poznawczą pracy, bardzo dużą grupę badaną, jakość przeprowadzonych badań, publikację wyników w wysokopunktowanym czasopiśmie naukowym (łącznie IF>10) oraz ich potwierdzony potencjał do zacytowania, wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycze Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o wyróżnienie rozprawy doktorskiej autorstwa lek. Kamila Cebulskiego.



dr hab. n. med. i n. o zdr. Maciej Gagat, prof. UMK