

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	23-04-2024
L. dz. RN-BiM/	677

Prof. dr hab. Jacek Malejczyk
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Centrum Biostruktury
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa
tel.: 22 629 52 82; 601 342 781
jacek.malejczyk@wum.edu.pl

Uniwersytet Medyczny
we Wrocławiu

RPW/6907/2024 P
Data: 2024-04-23

VIDI:

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
Przewodnicząca

prof. dr hab. Agnieszka Haloń

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ MGR BIOL. EWY KĄTNIK PT. „ROLA EKSPRESJI BCL11A W NIEDROBNOKOMÓRKOWYCH RAKACH PŁUC ORAZ RAKACH GRUCZOŁU PIERSIOWEGO.”

Przedstawiona mi do oceny rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu mgr biol. Ewy Kątnik została przygotowana w formie tak zwanej „spinki”, w skład której wchodzi wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską Kandydatki, wprowadzenie, założenia i cel pracy, streszczenie w języku polskim i angielskim (summary), pełnotekstowe kopie publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, podsumowanie i wnioski oraz załączniki. Te ostatnie zawierają oświadczenia współautorów publikacji dotyczących ich udziału w przygotowaniu prac i zgody na ich wykorzystanie w niniejszej rozprawie doktorskiej, opinię komisji bioetycznej oraz podsumowanie dorobku naukowego Kandydatki (publikacje i opublikowane doniesienia zjazdowe).

Badania naukowe stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej mgr biol. Ewa Kątnik wykonała w Zakładzie Histologii i Embriologii Katedry Morfologii i Embriologii Człowieka Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem Prof. Piotra Dzięgiela. Promotorem pomocniczym była dr Agnieszka Gomułkiewicz.

Podstawą rozprawy doktorskiej mgr Ewy Kątnik są trzy wymienione poniżej publikacje o łącznym IF 9,347 i 230 punktach MNISW, w tym jedna praca przeglądowa i dwie prace oryginalne.

1. Ewa Kątnik, Agnieszka Gomułkiewicz, Piotr Dzięgiel. Białko BCL11A – rola biologiczna i znaczenie w procesie nowotworowym. *Postępy Biologii Komórki*. 2018; 45(4): 293-318.
2. Ewa Kątnik, Agnieszka Gomułkiewicz, Aleksandra Piotrowska, Jędrzej Grzegorzówka, Alicja Kmiecik, Katarzyna Ratajczak-Wielgomas, Anna Urbaniak, Natalia Glatzel-Plucińska, Piotr Błasiak, Piotr Dzięgiel. BCL11A expression in non-small cell lung cancers. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(12): 9848.
3. Ewa Kątnik, Agnieszka Gomułkiewicz, Aleksandra Piotrowska, Jędrzej Grzegorzówka, Agnieszka Rusak, Alicja Kmiecik, Katarzyna Ratajczak-Wielgomas, Piotr Dzięgiel.

BCL11A expression in breast cancer. *Current Issues in Molecular Biology*. 2023; 45(4): 2681-2698.

Wszyscy współautorzy wyżej wymienionych publikacji złożyli oświadczenia o swoim wkładzie w pracę. Na podstawie tych oświadczeń mogę stwierdzić, że mgr Ewa Kątnik miała wiodący wkład w wykonanie badań i przygotowanie manuskryptów prac i tym samym uznaję przedstawione publikacje za jej własne, oryginalne osiągnięcie, uprawniające ją do ubiegania się o stopień doktora.

Badania przedstawione w rozprawie mgr Ewy Kątnik dotyczą potencjalnej roli czynnika transkrypcyjnego BCL11A (B-Cell Leukemia 11A) w patogenezie raka płuc i raka gruczołu mlekowego u ludzi, nowotworów, które stanowią ciągle poważny problem terapeutyczny i społeczny. Badania te wpisują się w szeroki nurt badań prowadzonych w Zakładzie Histologii i Embriologii Katedry Morfologii i Embriologii Człowieka Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu i dotyczą poszukiwań nowych biomarkerów nowotworów, które byłyby pomocne w tworzeniu nowych, skuteczniejszych narzędzi diagnostycznych i terapeutycznych. Wagi tych badań nie ma potrzeby uzasadniać, ponieważ mają one niezaprzeczalne znaczenie poznawcze i kliniczne.

W krótkim wprowadzeniu popartym cytowaniem odpowiednich pozycji piśmiennictwa Doktorantka w bardzo zwięzły sposób zapoznaje czytelnika z przedmiotem badań. W przekonujący sposób uzasadnia wybór nowotworów będących przedmiotem badań (rak płuca i rak gruczołu mlekowego) oraz wybór BCL11A jako czynnika transkrypcyjnego potencjalnie zaangażowanego w ich patogenezę. W kolejnej części mgr Ewa Kątnik wprowadza czytelnika w założenia i cel pracy. Ogólnym celem było określenie lokalizacji i poziomu ekspresji BCL11A w odniesieniu do dostępnych danych kliniczno-patologicznych w guzach niedrobnokomórkowego raka płuc, tkance płuc niezmięnionej nowotworowo, guzach raka gruczołu piersiowego oraz mastopatiach.

Bardziej szczegółowe informacje dotyczące BCL11A oraz wyników badań zostały przedstawione w 3 i półstronicowym streszczeniu w języku polskim i angielskim. Streszczenie jest bardzo dobrym podsumowaniem zarówno wiedzy na temat BCL11A zebranej w pracy przeglądowej jak i wyników opublikowanych w obu pracach oryginalnych.

Forma przedstawiania rozprawy doktorskiej w formie „spinki” wcześniej opublikowanych prac jest przyjętym, rozpowszechnionym i godnym polecenia rozwiązaniem. Takie prace na etapie publikacji były już poddane wnikliwej recenzji przez członków komitetu redakcyjnego czasopism. Stanowi to ważną wskazówkę dla recenzenta rozprawy i w pewnym stopniu zwalnia go od obowiązku szczegółowego recenzowania założeń prac, poprawności ich metodyki oraz uzyskanych wyników i sposobu ich interpretacji. Tym samym, w mojej ocenie przedstawionych w

ramach niniejszej rozprawy publikacji kierowałem się bardziej przesłankami formalnymi i wartością merytoryczną wyników dla rozwoju badań nad patogenezą i leczeniem nowotworów.

Pierwsza z cyklu trzech prac zatytułowana „Białko BCL11A – rola biologiczna i znaczenie w procesie nowotworowym” opublikowana po polsku w *Postęпах Biologii Komórki* jest pracą przeglądową. Jej celem było zebranie oraz usystematyzowanie najnowszych doniesień literaturowych dotyczących białka BCL11A. Muszę przyznać, że cel ten został zrealizowany bardzo dobrze. Z treści publikacji dowiedziałem się wielu interesujących rzeczy o czynniku BCL11A takich jak jego budowa, izoformy i funkcje w regulacji ekspresji genów oraz roli w regulacji genów, w szczególności tych związanych ze szlakiem apoptozy oraz różnicowaniem i rozwojem macierzystych komórek hemopoetycznych, limfocytów i komórek dendrytycznych a także komórek naskórka. Ciekawym zagadnieniem jest rola BCL11A w przemianach hemoglobiny oraz neurogenezie i kancerogenezie. Co ciekawe, ekspresja BCL11A może być regulowana przez miRNA, a jej zaburzenia mogą być np. skutkiem translokacji w przebiegu rozwoju nowotworów układu krwiotwórczego. W omawianej publikacji Doktorantka podsumowała również potencjalny udział BCL11A w patogenezie różnych typów nowotworów takich jak rak płuc, sutka, prostaty, jelita grubego i kilku innych. Ciekawość budzi również potencjalne znaczenie BCL11A w niektórych chorobach nienowotworowych. Publikację czyta się z zainteresowaniem, tym bardziej że kluczowe informacje i mechanizmy działania BCL11A są podsumowane na kilku przejrzystych rycinach. Podsumowując uważam, że to bardzo dobra praca, szczególnie w kontekście wprowadzenia merytorycznego do dwóch pozostałych prac oryginalnych. Żałuję tylko, że praca została opublikowana po polsku, co w ogromnym stopniu ogranicza zasięg zebranych informacji. Szkoda, bo jestem przekonany, że praca ta byłaby często cytowana w piśmiennictwie międzynarodowym.

Druga publikacja z cyklu zatytułowana „BCL11A expression in non-small cell lung cancers.” została opublikowana w *International Journal of Molecular Sciences*, a jej celem było zbadanie ekspresji BCL11A na poziomie mRNA i białka w niedrobnokomórkowym raku płuc (NSCLC) oraz w tkance prawidłowej płuc, a także w liniach komórkowych NCI-H1703, A549 oraz linii komórkowej IMR-90 prawidłowych fibroblastów płuc. W pracy zbadano również zależność pomiędzy poziomem ekspresji BCL11A a czynnikami kliniczno-patologicznymi, antygenem proliferacyjnym Ki-67 oraz markerami metaplastji nabłonkowo-mezenchymalnej (EMT). Przy tej okazji, z obowiązku recenzenta, muszę skrytykować termin „przejście epitelialno-mezenchymalne” użyty przez Doktorantkę, jako że słowo „przejście” kojarzy mi się raczej z „przejściem dla pieszych”.

Jestem pod dużym wrażeniem wyżej wymienionej pracy między innymi ze względu na analizę bardzo dużej liczby przypadków (259 przypadków raka drobnokomórkowego płuc i 116 próbek normalnej tkanki płuc). Sprawia to, że wyniki wskazujące na podwyższoną ekspresję BCL11A w NSCLC są wiarygodne i dobitnie świadczą o istotnej roli BCL11A w rozwoju tego nowotworu. Co ciekawe, jądrowa lub cytoplazmatyczna ekspresja BCL11A pozwalała na różnicowanie pomiędzy typem raka płaskonabłonkowego i raka gruczołowego. Typ ekspresji był

również powiązany z całkowitym czasem przeżycia pacjentów, co stanowi pewien czynnik rokowniczy. Wyniki te zostały dobrze zilustrowane i przedyskutowane, również w kontekście ograniczeń, które wynikały z charakteru badanej populacji i obecności nacieków leukocytarnych. Podsumowując, pracę tę oceniam jako bardzo dobrą, mająca znaczenie nie tylko poznawcze, ale również kliniczne.

Celem badań opisanych w trzeciej publikacji zatytułowanej „BCL11A expression in breast cancer.” i opublikowanej w *Current Issues in Molecular Biology* było zbadanie lokalizacji oraz poziomu ekspresji BCL11A w przypadkach raka gruczołu piersiowego i w mastopatiach oraz skorelowanie uzyskanych wyników zdanymi kliniczno-patologicznymi pacjentów. Drugim celem było określenie ekspresji BCL11A w liniach komórkowych raka gruczołu piersiowego (MCF-7, SK-BR-3, MDA-MB-231, MDA-MB-468) oraz linii komórkowej MCF-10A, wyprowadzonej ze zmiany o charakterze mastopatii. Badanie przeprowadzono na poziomie mRNA (qRT-PCR) i białka (immunohistochemia) na bardzo dużej liczbie próbek, co ma znaczenie dla wiarygodności wyników. Ekspresję BCL11A oznaczano też w liniach komórkowych. Autorzy udowodnili, że ekspresja BCL11A jest wyższa niż w kontrolnych próbkach pochodzących ze zmian łagodnych gruczołu piersiowego i zależy od histologicznego stopnia zaawansowania guza. Sugeruje to, że ekspresja BCL11A może mieć również znaczenie w rozwoju i progresji raka sutka. To bardzo ciekawe i ważne osiągnięcie, dlatego powyższą pracę i przedstawione w niej wyniki badań również oceniam bardzo wysoko.

Na końcu rozprawy mgr Kątnik zamieściła podsumowanie i wnioski wynikające z badań przedstawionych w jej publikacjach. Doktorantka przestawiła następujące wnioski:

1. Poziom ekspresji jądrowej i cytoplazmatycznej BCL11A był istotnie wyższy w komórkach NSCLC niż w tkance prawidłowej. Te rezultaty sugerują udział badanego białka w rozwoju NSCLC.
2. Ekspresja jądrowa BCL11A korelowała dodatkowo z ekspresją antygenu Ki-67 oraz jądrową Slug i Twist, co sugeruje, że obecność badanego białka w jądrze komórkowym może stymulować podziały komórek oraz EMT NSCLC.
3. Poziom ekspresji cytoplazmatycznej BCL11A był istotnie wyższy w komórkach BC szczególnie w stopniu złośliwości G1 w porównaniu do mastopatii, co sugeruje, że BCL11A może mieć znaczenie w inicjacji transformacji nowotworowej BC.

Wnioski te znajdują potwierdzenie w przedstawionych wynikach badań.

Podsumowując, uważam, że przedstawione mi do oceny publikacje zostały bardzo dobrze napisane i mają oparcie w bardzo rzetelnie i poprawnie przeprowadzonych badaniach opartych o nowoczesne techniki laboratoryjne.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr biol. Ewy Kątnik spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu określone w art. 13 ust. 1. ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65. poz. 595 z późniejszymi zmianami). Doktorantka wykazała się dużą erudycją i umiejętnością przygotowania pracy naukowej oraz posiada bogaty warsztat badawczy oparty na bardzo nowoczesnej metodologii badań doświadczalnych. Na uwagę zasługuje też fakt, że badania zostały oparte na bardzo dużym materiale klinicznym i liniach komórkowych, co wskazuje na ogromny trud i zaangażowanie Doktorantki w uzyskanie wyników.

Uważam, że Doktorantka osiągnęła stopień dojrzałości naukowej uprawniający ją o ubieganie się o stopień doktora i w związku z tym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie mgr biol. Ewy Kątnik do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie mając na uwadze fakt, że rozprawa i przedstawione w niej wyniki są oryginalne, mają wysoki poziom merytoryczny i wnoszą nowe informacje do wiedzy na temat patogenezy niedrobnokomórkowego raka płuc i raka sutka oraz że rozprawa ta jest zbiorem prac opublikowanych w dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym wnoszę również o nadanie mgr biol. Ewie Kątnik stopnia doktora z wyróżnieniem.

Warszawa, 15/04/2024

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii
prof. dr hab. Jacek Malejczyk
Jacek Malejczyk