

Dolnośląskie Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii



Wydział Medyczny Politechniki Wrocławskiej



Politechnika Wroclawska



Wydział
Medyczny

**Recenzja pracy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
pt.**

**“ Rola białka LDH-A w ucieczce przed apoptozą komórek
raka przelyku w odpowiedzi na TNF- α . ”**

lek. Agata Forkasiewicz

pod kierunkiem

dr hab. n. med. Katarzyny Augoff

Podjęcie przez Doktorantkę badań dotyczących roli białka LDH-A w ucieczce przed apoptozą komórek raka przelyku w odpowiedzi na TNF- α ma ogromną wartość poznawczą. Uzyskane wyniki mogą być bowiem podstawą do prowadzenia dalszych badań dotyczących określenia roli białka LDH-A w rozwoju komórek nowotworowych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani Agaty Forkasiewicz jest oparta o dwa artykuły, opublikowane w renomowanych, wysoko punktowanych czasopismach, w których Doktorantka jest pierwszym autorem:

1. **Forkasiewicz A**, Dorociak M, Stach K, Szlachowski P, Tabola R, Augoff K. The usefulness of lactate dehydrogenase measurements in current oncological practice. *Cell Mol Biol Lett.* 2020 Jun 9;25:35. doi: 10.1186/s11658-020-00228-7.

2. **Forkasiewicz A**, Stach W, Wierzbicki J, Stach K, Tabola R, Hryniewicz-Jankowska A, Augoff K. Effect of LDHA Inhibition on TNF- α -Induced Cell Migration in Esophageal Cancers. *Int J Mol Sci.* 2022 Dec 16;23(24):16062. doi: 10.3390/ijms232416062.

Rozprawa doktorska posiada następujący układ: na początku manuskryptu przedstawiony jest streszczenie w języku polskim i angielskim, następnie spis treści, wstęp, cele pracy, dalej wykaz publikacji związanych z rozprawą doktorską, wyniki, wnioski, materiał i metody, literatura. Rozprawa obejmuje łącznie 93 strony wydruku, 4 tabele i 11 rycin umieszczonych chronologicznie w tekście. Bibliografia obejmuje łącznie 222 pozycje.

We wstępie Doktorantka przedstawia dane epidemiologiczne dotyczące zachorowań na raka przełyku oraz podział histopatologiczny (jednak wydaje się, że należałoby tutaj zacytować nowszą wersję podziału histopatologicznego nowotworów przełyku). Dalej Doktorantka bardzo dokładnie opisuje czynniki ryzyka raka przełyku oraz szeroko omawia problem mediatorów procesu zapalnego, w tym czynnika martwicy nowotworów α (TNF- α). Skupia się na analizie wpływu TNF- α na metabolizm, migrację i przerzutowanie komórek nowotworowych oraz formowanie mikrośrodowiska guza. Następnie opisuje problem transformacji nowotworowej oraz roli dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w tym procesie.

Doktorantka formuje cel badawczy, który ma ocenić udział LDHA w ucieczce komórek nowotworowych przed apoptozą, indukowaną cytokiną prozapalną TNF- α , na przykładzie komórek raka przełyku.

Całość pracy, przeprowadzone analizy, doświadczenia odpowiadają na to pytanie. Poprzez wykonywanie kolejnych doświadczeń stawia odpowiedzi na poszczególne pytania związane z zaburzeniami, jakie toczą się w komórkach raka przełyku. Ilustruje to bardzo dokładnie szeregiem kolorowych rycin. W pierwszej kolejności dowodzi, że ekspresja LDHA, LDHB, TNFA, TNFRSF1A, TNFRSF1B oraz MMP9 jest zaburzona w raku przełyku, następnie udowadnia, że TNF- α indukuje wzrost ekspresji genów LDHA i LDHB. W kolejnym doświadczeniu pokazuje, że wyciszenie ekspresji genu LDHA nie powoduje uwrażliwienia komórek raka przełyku na proapoptotyczne działanie TNF- α , a oksamat sodu (SO) nie odblokowuje mechanizmów apoptozy zależnej od TNF- α w komórkach raka przełyku. Dalsze analizy pokazują natomiast, że oksamat sodu (SO) zmniejsza wydzielanie kwasu mlekowego i

hamuje proliferację komórek raka przełyku, a hamowanie aktywności LDHA zaburza indukowaną przez TNF- α migrację komórek raka przełyku i sekrecję MMP9.

Po przeanalizowaniu wyników badań Doktorantka wysunęła następujące wnioski:

1. Hamowanie aktywności LDHA w komórkach raka przełyku nie odblokowuje ścieżki apoptotycznej związanej z TNF- α , a więc nie generuje zmiany odpowiedzi komórkowej na TNF- α z pronowotworowej na antynowotworowa.
2. Użycie specyficznego inhibitora LDHA znosi promigracyjny efekt TNF- α na komórki raka przełyku oraz hamuje indukowaną przez TNF- α sekrecję MMP9, co wiąże się z osłabieniem aktywacji ścieżki sygnałowej związanej z Erk1/2. Potwierdza tym samym bezpośrednią zależność pomiędzy statusem metabolicznym glukozy i skutecznością odpowiedzi komórek nowotworowych na pronowotworowe działanie TNF- α , jednej z głównych cytokin prozapalnych, związanych z kancerogenezą i progresją nowotworową.
3. Oksamat sodu jest skuteczny w hamowaniu sekrecji mleczanu oraz ma antyproliferacyjne działanie na komórki raka przełyku.
4. Uzyskane wyniki dają podstawę do rozważenia zastosowania inhibitora LDHA w projektowaniu terapii uzupełniającej u pacjentów z rakiem przełyku.

W rozdziale Materiał i metody Doktorantka dokładnie i precyzyjnie opisuje użytą aparaturę, wykorzystane materiały oraz odczynniki. Następnie w sposób zwięzły opisuje metodologię przeprowadzonych badań oraz analiz statystycznych

Recenzujący ma kilka uwag technicznych do przygotowanej pracy. W żadnym razie nie obniżają one wartości pracy, ale mogą się przydać Doktorantce w dalszej pracy badawczo-naukowej. Jak pisał poeta „chodzi mi o to, aby język giętki powiedział wszystko, co pomyśli głowa...”. W pierwszej kolejności należy zwrócić uwagę na abstrakt, który jest dość długi, zawiera znaczną liczbę szczegółów, co powoduje, że jest mało czytelny i dość trudny w odbiorze. Wskazane byłoby skrócenie streszczenia i zawarcie w nim tylko najważniejszych informacji. Dla łatwiejszego poruszania się po pracy dobrze byłoby również umieścić w spisie treści informacje o numerach stron, jak również przygotować wykaz rycin i tabel. W tak skomplikowanych pracach ważne jest również przygotowanie wykazu skrótów, który niezwykle ułatwia czytanie i rozumienie przedstawionych analiz i wyników. Wydaje się również, że lepiej czyta się i rozumie publikacje, w których odniesienia do literatury są numerowane, ale to subiektywne odczucie recenzującego.

Sumując, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma znaczną wartość naukową i, co należy podkreślić, został w niej zawarty unikalny materiał. Wyniki badań przeprowadzonych przez Doktorantkę zostały opublikowane w renomowanych, wysoko punktowanych czasopismach naukowych. Cykl publikacji jest spójny w zakresie analizowanej tematyki. Formułowane wyniki oraz wnioski są zgodne z przedstawionymi celami pracy. Doktorantka dobrze omawia znaczenie uzyskanych wyników w aspekcie klinicznym. Dyskusja jest napisana w sposób metodyczny i uwzględnia publikacje w zakresie analizowanej tematyki.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska pt. “ Rola białka LDH-A w ucieczce przed apoptozą komórek raka przełyku w odpowiedzi na TNF- α .” przygotowana przez panią lek. Agata Forkasiewicz pod kierunkiem pani dr hab. n. med. Katarzyny Augoff spełnia warunki określone w art. 187 ust 1. o ust. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a Doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną w prezentowanej dyscyplinie oraz posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych. W związku z powyższym pracę **opiniuję pozytywnie** i przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie pani Agaty Forkasiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z uwagi na ogrom pracy wykonanej przez Doktorantkę, innowacyjność przeprowadzonych badań, jak również fakt opublikowania wyników analiz w renomowanych, wysoko punktowanych czasopismach naukowych wnioskuję do wysokiej Rady Naukowej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o **wyróżnienie pracy doktorskiej** pani lek. Agaty Forkasiewicz.

Z poważaniem

dr hab. n. med. Bożena Cybulska-Stopa, prof. PWr

Wrocław 10.06.2024