

Warszawa, 29.09.2023 r

dr hab. n. med. Elżbieta Sarnowska, prof. Instytutu
Zakład Immunoterapii Eksperymentalnej
Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie
– Państwowy Instytut Badawczy
ul. Roentgena 5
02-781 Warszawa

Recenzja pracy doktorskiej pt. „EGFR2 w regulacji współzależności p62/Keap1/Nrf-2 – znaczenie w luminalnym raku piersi”.

Autorka: mgr Monika Górska – Arcisz

Choroby nowotworowe są jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie, dlatego są istotnym problemem cywilizacyjnym. Pomimo ogromnych postępów w leczeniu przez zastosowanie terapii celowanych i immunoterapii, wciąż wiele typów nowotworów stanowi wyzwanie dla współczesnej medycyny. Jedną z obecnie stosowanych metod leczenia jest użycie inhibitorów kinaz m.in. FGFR2, który wydaje się być doskonałym celem terapeutycznym w wielu nowotworach. FGFR2 należy do grupy receptorów czynników wzrostu fibroblastów (FGFR). FGFR2 to receptor o aktywności kinazy tyrozynowej, która indukuje proliferację i migrację. Deregulacja FGFR2 przyczynia się do progresji nowotworu, a mutacje aktywujące w FGFR2 występują w kilku typach nowotworów. FGFR2 jest zmieniony w ok. 2% wszystkich nowotworów, przy czym największą częstość występowania zmian ma gruczolakorak endometrium, inwazyjny przewodowy rak piersi, czerniak skóry, gruczolakorak okrężnicy i gruczolakorak płuc. Inhibitory FGFR2 są obecnie stosowane

w wielu badaniach klinicznych a FDA zatwierdziła erdafitinib w leczeniu przerzutowego raka urotelialnego z potwierdzonymi zmianami w FGFR2 i FGFR3, natomiast pemigatynib jest wskazany w leczeniu nieresekcyjnego raka dróg żółciowych ze zmianami w FGFR2.

Przedstawiona praca składa się ze standardowych części – Streszczenia w języku polskim i angielskim, Wstępu, Celów pracy, Materiałów, Metod, Wyników, Podsumowania i Dyskusji oraz Literatury. Praca poprzedzona jest spisem treści, co ułatwia pracę nad tekstem oraz poruszanie się w nim. Szczególną uwagę zwraca przejrzystość napisany wstęp, który dobrze wyjaśnia podjęte zagadnienia, który może być doskonałym materiałem na pracę pogładową. W kolejnej części cele naukowe są czytelnie przedstawione. Opis materiałów oraz użytych w pracy metod, opracowanie wyników przeprowadzonych doświadczeń oraz obszerna, dobrze przeprowadzona dyskusja i bibliografia są dobrze i zrozumiale napisane i sformułowane. W pracy ponadto znajdują się także wykaz skrótów, które są bardzo pomocne podczas czytania pracy. Praca napisana jest w sposób interesujący i zawiera wystarczające informacje, które umożliwiają ocenę dokonań Doktorantki oraz wagę prowadzonych przez nią badań, które są w głównym nurcie aktualnych badań naukowych. Zarówno układ pracy jak i ujęte w niej dane literaturowe oraz informacje i oświadczenia spełniają wszelkie wymogi formalne i są zgodne z art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2021 r. poz. 478 ze zm.)

W pracy Doktorantka wykazała związek FGFR2 z aktywacją procesu autofagii. Autofagia to jeden z podstawowych procesów komórkowych, który pozawala na eliminację cząsteczek i elementów subkomórkowych, w tym kwasów nukleinowych, białek, lipidów i organelli, poprzez degradację ich w lizosomach. Autofagia jest niezbędna w utrzymaniu homeostazy, różnicowania, rozwoju i przeżycia komórek. W pracy Doktorantka przeprowadziła doświadczenia na liniach komórkowych raka piersi estrogeno-zależnych oraz na bazach danych transkryptomicznych z materiału pochodzącego od pacjentek. Doktorantka za pomocą doskonale dobranych eksperymentów wykazała, że sygnalizacja poprzez FGFR2

aktywuje autofagie oraz ma działanie w ochronie komórek raka piersi przed działaniem leków anti-estrogenowych. Doktorantka udowodniła, że ochronna funkcja FGFR2 została zniesiona poprzez zastosowanie inhibitora autofagii – chlorochiny. Dodatkowo, Doktorantka wykazała, że FGF7 indukuje proces autofagii poprzez receptor FGFR2 w komórkach raka piersi hormono-zależnego. Następnie Doktorantka wykazała, że FGF7 indukuje autofagie w dwóch liniach raka piersi MCF7 i T47D poprzez wzrost ekspresji białka LC3B i p62. W linii MCF7 wydaje się, że LC3B wzrasta podobnie jak p62, natomiast w linii T47D LC3B wzrasta a p62 wyraźnie maleje. Czy Doktorantka może zasugerować dlaczego tak jest? Czy te linie mogą mieć inne szlaki/elementy szlaków autofagii?

Co ciekawe, doktorantka wykazała, że chlorochina – inhibitor autofagii w linii MCF7 zwiększała ilość białka p62 w porównaniu z inhibitorem proteasomu MG132, natomiast w linii T47D efektu tego nie było. Dlaczego? Jakie może być wyjaśnienie tego fenomenu? Czy Doktorantka sprawdzała ilość mRNA dla p62 w tych liniach?

W dalszych badaniach Doktorantka wykazała, że sygnalizacja zależna od receptora FGFR2 wpływa na regulację białek Keap1/Nrf-2 w obydwóch badanych liniach. Jednak białko p62, które jakby spaja obydwie ścieżki FGFR2 i Keap1/Nrf-2 natomiast w badanych liniach po indukcji autofagii przez FGF7, ligand dla FGFR2, p62 „zachowuje się” inaczej, podobnie po dodaniu chlorochiny, czy jakie może być wytłumaczenie tego zjawiska?

Dodatkowo, na Rycinie 15 Doktorantka zastosowała jako kontrolę frakcji cytoplazmatycznej winkulinę. Dlaczego we frakcji jądrowej również widać dużą ilość tego białka? Dlaczego na WB do Nrf-2 znajduje się kilka prążków, czy Doktorantka ma jakąś hipotezę lub zna modyfikacje potranslacyjne tego białka?

W dalszej części dysertacji Doktorantka przeprowadziła szereg analiz danych klinicznych i transkryptomicznych dostępnych w bazach danych i wykazała, że pacjentki z nadekspresją FGFR2 i wysokim poziomem ekspresji Nrf-2 mają gorsze rokowanie. W mojej ocenie praca jest doskonale przygotowana warsztatowo. Jasny wywód logiczny po kolei

przedstawianych eksperymentów, a także doskonały dobór technik badawczych aby zweryfikować przedstawione hipotezy i uzyskać odpowiedzi na zadawane pytania. Doktorantka wykazała się dużą wiedzą, o czym świadczy, że połączyła dwa nieoczywiste szlaki: autofagie i szlak sygnalizacyjny FGFR2, którego główną funkcją jest utrzymanie proliferacji komórek nowotworowych, zwiększenie ich potencjału migracyjnego, neoangiogeneza oraz wytwarzanie oporności na stosowane leki, poprzez regulacje ekspresji FGFR2 zależnych genów. Doktorantka doskonale poradziła sobie z połączeniem tak skomplikowanego szlaku sygnałowego z nową, niekanoniczną jego funkcją jaką jest indukcja autofagii. Ciekawa jestem, czy Doktorantka zastanawiała się nad wpływem metforminy w tym skomplikowanym układzie. Metformina jest związkiem stosowanym w cukrzycy typu 2 i powoduje aktywację AMPK, która jest związana z autofagią.

Dodatkowo pragnę podkreślić, że praca jest napisana niezwykle starannie z dbałością o detale takie jak odpowiednia czcionka, podpisy pod rysunkami zachowane w tej samej konwencji, przejrzyste obrazki oraz dobrej jakości ryciny przedstawiające szlaki sygnałowe i inne zagadnienia molekularne. Podoba mi się także graficzne przedstawienie osiągnięć w rozdziale Dyskusja. Pozwala to, na szybkie zrozumienie toku myślenia Doktorantki i ułatwia zrozumienie połączenia różnych ścieżek molekularnych, które badała w swojej pracy. W mojej ocenie brakło tylko wniosków końcowych z otrzymanych wyników, byłoby to doskonałą syntezą całej pracy.

Podsumowując uważam, że mgr Monika Górską – Arcisz osiągnęła stawiane sobie cele naukowe. Przedstawiona w pracy dyskusja, w bardzo dobry sposób naświetla dalsze drogi prowadzenia badań w tej dziedzinie nauki. Dlatego wnioskuję o dopuszczenie mgr Moniki Górskiej – Arcisz do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz wnioskuję o wyróżnienie pracy.

KIEROWNIK
ZAKŁADU IMMUNOTERAPII
EKSPERYMENTALNEJ

dr hab. Elżbieta Sarnowska
prof. Instytutu