Narodowy Instytut Onkologii
im. Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy
Oddział w Krakowie

Kraków 24. 04. 2020

Recenzja pracy doktorskiej mgr Aldony Olchowskiej-Jarząb pt „Wpływ gastryny i nie amidowanych peptydów gastryny na interakcje między receptorami aktywowanymi przez proliferatory peroksysomów (PPARγ) a mechanizmami karcinogenezy jelitowej i apoptozy w modelach nowotworowych in vitro".

Do recenzji otrzymano rozprawę doktorską w formie zbioru trzech opublikowanych doniesień naukowych, w tym dwóch prac oryginalnych i jednej pracy poglądowej, dotyczących wpływu gastryny i nie amidowanych peptydów gastryny na interakcje między receptorami jądrowymi PPARγ oraz szlakiem sygnałowym WNT/β-katenina w modelach *in vitro* złośliwych nowotworów przewodu pokarmowego, a konkretnie raka przełyku, trzustki i jelita grubego. Prace oryginalne zostały ogłoszone w czasopismach z listy filadelfijskiej o znaczącym wskaźniku oddziaływania; łączny IF (*impact factor*) równy 4,963 (w tym *Clin Diagn Pathol* 2018 – IF 2.528 oraz *EPH- International Journal of Biological & Pharmaceutical Science* 2019 – IF= 2.435). We wszystkich wspomnianych doniesieniach Doktorantka była jednocześnie pierwszym i korespondującym autorem.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska wpisuje się w jeden z głównych nurtów działalności naukowej Katedry Fizjologii *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego jakim jest badanie fizjologicznego i patofizjologicznego znaczenia wybranych enterohormonów, w tym przypadku gastryny. Z licznych doniesień z piśmiennictwa z ostatnich kilku lat wiadomo, że wydzielanie gastryny jest powiązane ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na złośliwe rozrosty nabłonka jelita grubego, żołądka, wątroby i trzustki (Smith AM, Watson SA. Review article: gastrin and colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000;14(10):1231–1247) i dotyczy to zarówno gruczolakoraków wspomnianych narządów jak i nowotworów neuroendokrynnych (Maddalo G, Spolverato Y, Rugge M, Farinati F. Gastrin: from pathophysiology to cancer prevention and treatment. *Eur J Cancer Prev.* 2014;23(4):258–263). Co więcej, wiadomo, że gastryna może stymulować proliferację komórek nabłonka również na drodze autokrynnej, gdyż komórki wybranych nowotworów (np. raka jelita grubego) wykazują na swojej powierzchni receptory dla gastryny (Smith AM, Watson SA. Review article: gastrin and colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000;14(10):1231–1247). Obserwacje te zostały już nawet wykorzystane przy podejmowanych próbach leczenia raków jelita grubego z mutacją w genie K-*RAS* za pomocą humanizowanego przeciwciała skierowanego przeciwko progastrynie (Prieur A, Cappellini M, Habif G, et al. Targeting the Wnt Pathway and Cancer Stem Cells with Anti-progastrin Humanized Antibodies as a Potential Treatment for K-RAS-Mutated Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res.* 2017;23(17):5267–5280).

Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Krakowie
ul. Garncarska 11
31-115 Kraków

Dyrekcja
Tel.: +48 12 634 82 00
Fax: +48 12 422 66 80
dyrektor@onkologia.krakow.pl
www.onkologia.krakow.pl

Centrala
Tel.: +48 12 364 80 00
Fax: +48 12 423 10 76
NIP: 5250008057
REGON: 000288366-0035

Sam mechanizm karcinogennej roli gastryny i jej prekursorów nie został jednak dotychczas wystarczająco dobrze poznany, dlatego badania przeprowadzone przez Doktorantkę i doniesienia będące ich podsumowaniem istotnie poszerzają naszą wiedzę o mechanizmach nowotworzenia związanego z nadekspresją i /lub nadprodukcją gastryny i pochodnych peptydów.

Wspomniane doniesienia były efektem badań o charakterze doświadczalnym, które wymagały zastosowania różnorodnych technik laboratoryjnych Zostały one przeprowadzone na liniach komórkowych trzech raków gruczołowych: PANC-1 (linia ludzkich komórek gruczolakoraka trzustki), OE-33 (linia komórkowa raka gruczołowego dolnego odcinka przełyku) oraz HT-29 (linia gruczolakoraka jelita grubego). Większość wspomnianych badań Doktorantka wykonała samodzielnie i w sposób przejrzysty udokumentowała ich wyniki. Efekt troficzny działania gastryny i prekursorów gastryny na wybrane linie komórkowe przebadała za pomocą testu MTT, zaś do badania wpływu gastryny i jej prekursorów na interakcje pomiędzy receptorami PPARγ i szlakiem WNT/ β-katenina wykorzystała techniki immunoblotingu. Test MTT posłużył do oceny aktywności dehydrogenazy mitochondrialnej, co w ściśle określonych warunkach doświadczalnych pozwoliło na ustalenie liczby aktywnych metabolicznie (żywych) komórek nowotworowych. Z kolei, przy zastosowaniu techniki Western Blot Doktorantka badała zmiany w ekspresji białka PPARγ oraz β-kateniny pod wpływem eksponowania linii gruczolakoraków na działanie gastryny i jej prekursora Gly-gastryny. Równoczesne zastosowanie gastryny i jej prekursora skutkowało wzrostem ekspresji białka PPARγ w komórkach linii PANC-1. Natomiast w przypadku linii komórkowej OE-33 na aktywność receptora PPARγ wpływała jedynie stymulacja gastryną. W obu liniach komórkowych (PANC-1 i OE-33) wykazano wzrost ekspresji β-kateniny zarówno po stymulacji gastryną jak synergicznej stymulacji gastryną i jej prekursorem. W linii komórkowej OE-33 zaobserwowano osłabienie aktywności receptora PPARγ w wyniku indukcji β-kateniny.

Efektem przeprowadzonych doświadczeń jest obserwacja, że gastryna oraz Gly-gastryna wykazują działanie troficzne i mają wpływ na β-kateninę oraz aktywność receptorów PPARγ. Uzyskane wyniki potwierdzają tezę, że w przypadku części nowotworów przewodu pokarmowego dochodzi do spadku aktywności PPARγ przy jednoczesnym wzroście aktywności szlaku sygnałowego WNT/ β-katenina na skutek działania prekursorów gastryny. Wzrost aktywności szlaku WNT/ β-katenina sprzyja hamowaniu procesów apoptozy poprzez wzrost ekspresji β-kateniny w badanych liniach komórkowych. Co więcej, ligandy PPARγ mogą prowadzić do zahamowania proliferacji raka okrężnicy niezależnie od

apoptozy, ale jak wykazała Doktorantka, nie wszystkie rodzaje ligandów hamują proces nowotworzenia.

Przedstawione wnioski w pełni odpowiadają na założone przez Doktorantkę cele pracy.

Lektura poglądowej pracy pt „*Effect of TLRs and nuclear PPARγ receptors on the mechanisms of intestinal carcinogenesis*" dowodzi, że Pani Magister dysponuje rozległą wiedzą na temat mechanizmów nowotworzenia opartych na szlakach sygnałowych związanych z aktywację receptorów PPARγ oraz powiązanych z receptorami Toll-podobnymi.

Podsumowując, w mojej ocenie cykl prac pt.: **„Wpływ gastryny i nie amidowanych peptydów gastryny na interakcje między receptorami aktywowanymi przez proliferatory peroksysomów (PPARγ) a mechanizmami karcinogenezy jelitowej i apoptozy w modelach nowotworowych in vitro"** w pełni odpowiada kryteriom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i spełnia warunki 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). Mając to na uwadze zwracam się z do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum o dopuszczenie **mgr Aldony Olchowskiej-Jarząb** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Patomorfologii Nowotworów

Prof. dr hab. med. Janusz Ryś

Kielce 27.04.2020