Prof. dr hab. n. med. Jacek Roliński
KATEDRA I ZAKŁAD IMMUNOLOGII KLINICZNEJ
UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE
ul. Chodźki 4a Tel. (0-81) 448 64 20
20-093 Lublin fax (0-81) 448 64 21
e-mail: jacek.rolinski@gmail.com

Lublin dn. 30.12.2020r.

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr Marcina Krzykawskiego pt. „Ocena nowych modeli doświadczalnych opracowywanych w celu monitoringu wzrostu, immunogenności i przerzutowania komórek nowotworowych" wykonanej w Katedrze Immunologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie pod kierunkiem Prof. dr hab. n. med. Janusza Marcinkiewicza.

Oceniana rozprawa doktorska zatytułowana po angielsku „Evaluation of new experimental models developed to monitor growth, immunogenicity and metastasis of cancer cells" oraz po polsku „Ocena nowych modeli doświadczalnych opracowywanych w celu monitoringu wzrostu, immunogenności i przerzutowania komórek nowotworowych" składa się z cyklu 4 prac (3 artykułów opublikowanych i jednej pracy zgłoszonej do druku w czasopiśmie Computers in Biology and Medicine w dniu 30.12.2019). Trzy prace, które zostały już opublikowane, znalazły się w czasopismach posiadających współczynnik oddziaływania (Impact Factor- IF). Łączna wartość IF tych prac nie przekracza 3 pkt IF i 65 punktów MNiSW. We wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem. Dwie prace zostały opublikowane w 2015 roku w czasopismach: Central European Journal of Immunology i Folia Medica Cracoviensis, a ostatnia w 2019 roku w czasopiśmie Cytotechnology. Czwarta praca została zgłoszona do druku w czasopiśmie Computers in Biology and Medicine, posiadającym IF=3,434 (w 2019 roku), ale na stronie czasopisma obejmującym plany wydawnicze do marca 2021 roku nie znalazłem informacji na temat akceptacji publikacji do druku. Załączone oświadczenia wszystkich współautorów dokumentują istotny wkład mgr Marcina Krzykawskiego w poszczególne prace, szkoda tylko że Doktorant nie oszacował swojego procentowego udziału w poszczególnych publikacjach, tak jak to zwykle się czyni przy ocenie tego rodzaju dorobku naukowego.

Przedstawiona mi do oceny praca liczy 71 stron maszynopisu i składa się w znacznej części cyklu czterech w/w publikacji. Dodatkowo w rozprawie zamieszczono krótkie streszczenia w języku polskim i angielskim, oświadczenia współautorów oraz Doktorant bardzo skrótowo opisał 4 artykuły składające się na cykl publikacji stanowiących rozprawę. Wg recenzenta w ocenianej pracy doktorskiej brakuje wprowadzenia, w którym Autor powinien omówić zagadnienia które badał, nie ma też ogólnej charakterystyki celów badań obejmującej wszystkie w/w publikacje oraz podsumowania/omówienia wyników. Doktorant decydując się na rozprawę doktorską w formie cyklu publikacji powinien zbiorczo przeanalizować uzyskane w poszczególnych pracach wyniki i przedstawić je w postaci wniosków będących podsumowaniem badań.

W przeprowadzonych doświadczeniach Doktorant wykorzystał ustalone linie komórkowe: raka trzustki Panc_02, ludzka linia NP-18 i mysia MC38CEA. Na bazie linii Panc_02 opracował nowatorski test selekcji migracyjnej in vitro (IVMS), który umożliwił stworzenie modelu badawczego pasywnego rozsiewu komórek nowotworowych. W przeciwieństwie do migracji aktywnej, rozsiew pasywny jest procesem, w którym komórki guza mogą pozostawać zawieszone w płynach ustrojowych przez pewien czas, prowadząc do rozwoju biernych przerzutów nowotworowych.

Pierwsza z prac opublikowana w czasopiśmie Folia Medica Cracoviensis Vol. LV, 3, 2015: 15–24 pod tytułem „Pan_02 murine pancreatic cancer model" miała na celu charakterystykę linii mysiego gruczolakoraka trzustki Pan_02 jako modelu nowotworu, który został wykorzystany do dalszych badań. Linie tą cechuje pewne podobieństwo do raka trzustki u ludzi zwłaszcza w odniesieniu do niskiej wrażliwość na chemioterapeutyki. Doktorant na modelu mysim C57BL/6 wykazał istotne różnice we wzroście guza w zależności od liczby zaszczepionych komórek nowotworowych. Stwierdził również, że duże guzy wykazywały bogatsze unaczynienie, zwłaszcza w zakresie dużych naczyń krwionośnych.

Drugi artykuł pt: „Combined bacterial and viral treatment" opublikowany w Central Eur J Immunology 2015; 40 (3): 366-372 jest pracą poglądową. Przedstawia on propozycje nowej skojarzonej terapii przeciwnowotworowej polegającej na łącznym zastosowaniu wirusów oraz bakterii. Doktorant w publikacji omówił różne mechanizmy działania wirusowych i bakteryjnych terapii przeciwnowotworowych, podkreślając ich zalety i wady. Podsumowaniem pracy jest propozycja terapii skojarzonej z wykorzystaniem różnych drobnoustrojów o działaniu onkolitycznym, która może stworzyć nową jakość terapeutyczną.

Trzecia praca opublikowana w Cytotechnology (2019) 71:989-1002 zatytułowana "A novel in vitro model of metastasis supporting passive shedding hypothesis from murine

pancreatic cancer Panc_02" jest pracą oryginalną, będącą kontynuacją wcześniejszych badań prowadzonych na linii komórkowej mysiego gruczolakoraka trzustki Panc_02. Doktorant wykorzystał linie Panc_02 i wyprowadzoną z niej pokrewną inwazyjną linię Panc02-RS (zawierającą zarówno komórki w zawiesinie jaki i adherentne) w celu oceny potencjału metastatycznego „in vivo" na myszach szczepu C57BL/6. Wyniki badań pozwoliły na stworzenie hipotezy rozwoju odległych biernych przerzutów nowotworowych przenoszonych drogą krwi, których komórki pozostają oporne na apoptozę pomimo oderwania od guza pierwotnego. Ten model jest odmienny od dotychczasowego paradygmatu przerzutów aktywnych. Uważam, że przedstawiona w w/w publikacji hipoteza jest nowatorska oraz istotna z punktu widzenia poznawczego i klinicznego.

Ostatnia czwarta praca „Mathematical model of biological anticancer agents distribution in vivo based on entire tumor imaging" została zgłoszona do druku w czasopiśmie Computers in Biology and Medicine. Mgr Marcin Krzykawski przedstawił w niej 3 algorytmy, które przetestował na barwionych preparatach pochodzących z wybranych guzów nowotworowych: linia ludzka NP-18 i mysia MC38CEA. Linie te zostały wykorzystane „in vivo" w badaniach na myszach w celu opracowania najskuteczniejszego modelu terapii przeciwnowotworowej. Jako drobnoustroje onkolityczne zostały użyte ludzkie adenowirusy: VCN-01 i ICOVIR-ISK oraz dwie modyfikacje szczepu bakterii VNP90002 Salmonella Typhimurium: VNP PREP4 oraz VNP PREP4 Plac-nSipB. Wcześniejsze badania prowadzone pod kierunkiem Prof. dr hab. n. med. Janusza Marcinkiewicza w Katedrze Immunologii CM UJ pozwoliły na stworzenie modelu bakterii onkolitycznej VNP90002 Salmonella Typhimurium, który został wykorzystany w w/w rozprawie do oceny rozsiewu wewnątrz guza. Z wykorzystaniem programu komputerowego Microorganism Intratumoral Distribution Investigation Tool (MIDIT) i opracowanych kliku modeli matematycznych Doktorant opisał sposób rozprzestrzeniania się bakterii lub wirusów onkolitycznych w guzie. Przedstawiony model matematyczny jest przykładem możliwości wykorzystania programu komputerowego MIDIT do stworzenia nowych strategii terapeutycznych. Być może umożliwi on naukowcom ocenę rozprzestrzeniania się drobnoustrojów onkolitycznych wewnątrz guza oraz pozwoli na porównywanie wyników doświadczeń z wykorzystaniem różnych mikroorganizmów. Ostatecznie pozwoli to na ocenę, która modyfikacja drobnoustroju onkolitycznego ma największy potencjał do równomiernego rozprzestrzeniania się wewnątrz guza. Praca ta jest zachętą do przeprowadzenia dalszych badań z wykorzystaniem bakterii i wirusów onkolitycznych w celu potwierdzenia tej interesującej hipotezy terapeutycznej.

Podsumowując ocenę w/w artykułów naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej stwierdzam, że zarówno dobór technik badawczych, jak i przeprowadzone doświadczenia, uzyskane wyniki oraz ich analiza statystyczna nie budzą zastrzeżeń. Badania wykonane przez Doktoranta przyniosły szereg ważnych obserwacji, niezwykle istotnych dla lepszego poznania mechanizmów przerzutowania nowotworów i jego wpływu na dalszy rozwój nowotworu. Oświadczam, że przedłożona mi do oceny praca doktorska mgr Marcina Krzykawskiego pt. „Evaluation of new experimental models developed to monitor growth, immunogenicity and metastasis of cancer cells / Ocena nowych modeli doświadczalnych opracowywanych w celu monitoringu wzrostu, immunogenności i przerzutowania komórek nowotworowych " spełnia wymogi stawiane rozprawie na stopień naukowy doktora nauk medycznych określone w art.13 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.). Temat rozprawy jest interesujący, a uzyskane wyniki mają ważny aspekt praktyczny i służą postępowi medycyny. Praca stanowi oryginalne rozwiązanie i omówienie przez Doktoranta istotnego zagadnienia naukowego. Przeprowadzone przez Doktoranta badania mają ważne implikacje merytoryczne i praktyczne. Rozprawę pomimo kilku uwag krytycznych oceniam wysoce pozytywnie. Na podstawie dokonanej oceny rozprawy mam przyjemność przedłożyć Radzie Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie mgr Marcina Krzykawskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Jacek Roliński