

Recenzja rozprawy na stopień doktora mgr Joanny Parady p.t. „Analiza transkryptomów raków jajnika, z uwzględnieniem długich niekodujących RNA (lncRNA) – w poszukiwaniu nowych markerów molekularnych” wykonanej pod kierunkiem naukowym Promotora – dr hab. n. med. Magdaleny Chechlińskiej, prof. Instytutu oraz Promotora pomocniczego dr n. med. Łukasza Szafrona

Przedstawiona mi do recenzji praca liczy 201 stron starannie przygotowanego obustronnego wydruku komputerowego i została podzielona, w sposób typowy, dla tego rodzaju dysertacji. Na początku Doktorantka przedstawiła 3 granty /Grant Fundacji im. Jakuba hr. Potockiego, Grant wewnętrzny oraz Grant NCN Opus/ będące źródłem finansowania wyników badań prezentowanych w rozprawie. Przed wstępem, Autorka umieściła spis treści, spis rycin i tabel, wykaz zastosowanych skrótów oraz streszczenia w języku polskim i języku angielskim. Wstęp obejmuje 40 stron maszynopisu i szczegółowo zapoznaje Recenzenta z najważniejszymi zagadnieniami dysertacji. Doktoranta w sposób przejrzysty omówiła rolę mikrośrodowiska nowotworu w kancerogenezie /strony 35- 37/, jak i udział różnych komórek /np. makrofagi TAM, fibroblasty związane z nowotworami czy

komórki dendrytyczne/ tworzących mikrośrodowisko guza. Warto podkreślić cytowane przez Autorkę badania Hanahan w których zaproponowano, między innymi, badania mikrobiomu jako składnika wieloetapowego procesu transformacji nowotworowej komórki. Na stronach 43-56 Doktorantka opisała epidemiologię oraz klasyfikację kliniczno-patologiczną raka jajnika. W skrócie przedstawiła także stosowane w diagnostyce klinicznej markery nowotworowe raka jajnika. Zaprezentowano także najważniejsze szlaki sygnalizacyjne w raku jajnika, jak również opisano lncRNA i sekwencjonowanie nowej generacji. Wstęp wprowadzająca Recenzenta w szczegółową tematykę rozprawy, zaś uzupełnieniem są bardzo starannie przygotowane kolorowe Ryciny.

Celem prowadzonych badań była molekularna identyfikacja transkryptów, w tym lncRNA, w guzach granicznych jajnika i rakach jajnika, jak również wykrycie wariantów genetycznych w analizowanych nowotworach. Poddano także ocenie analizę ontologiczną genów o zróżnicowanej ekspresji w zależności od parametrów kliniczno-patologicznych i zastosowanego leczenia.

Badana grupa obejmowała łącznie 148 przypadków raka jajnika /w tym aż 82% guzów surowiczych/ oraz 17 guzów o granicznej złośliwości /grupa bardzo ciekawa ale niestety niewystarczająca do wyciągnięcia końcowych wniosków/, uzyskanych od pacjentek operowanych w latach 1995-2008. Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej /warto byłoby przedstawić stosowną zgodę w suplemencie dysertacji/. Autorka szczegółowo przedstawiła odczynniki i zestawy zastosowane w pracy. W Metodzie, opisano izolację RNA ze skrawków guzów jajnika, przygotowanie bibliotek cDNA i wykonanie NSG RNA-seq. Na wyróżnienie wykazują rozdziały: „3.2.4. Analiza biblioinformatyczna wyników NSG” oraz

„3.2.5. Ocena ekspresji wybranych genów metodą ilościowego PCR w czasie rzeczywistym”.

W odczuciu Recenzenta, wskazane byłoby opisanie metodyki analizy zaburzeń strukturalnych *TP53* /na co powołuje się wielokrotnie Doktorantka w Wynikach badań/, jak również zbiorcze przedstawienie zastosowanych testów statystycznych wraz z informacjami o ich Producentach.

Wyniki badań, prezentowane na aż 94 stronach maszynopisu, są najmocniejszą stroną rozprawy i wskazują na ogrom ciężkiej pracy laboratoryjnej włożonej przez Doktorantkę. Autorka bardzo szczegółowo przedstawiła analizę profilu ekspresji genów w rakach jajnika i guzach granicznych jajnika w zależności od zaburzeń *TP53* i zastosowanej chemioterapii. Myślę, iż część wybranych Tabel /np. Tabele 6, 7A czy 7B/ można było umieścić w suplemencie na końcu rozprawy. Szczegółowo zaprezentowano analizę ontologiczną genów w kontekście CR, DFS, OS, czy PS. Najciekawszą częścią pracy jest wybranie 10 genów jako potencjalnych markerów prognostycznych raka jajnika. Wśród tych genów są markery mogące być negatywnym czynnikiem prognostycznym /GRM8, FZD4/, czy markerem którego podwyższona ekspresja zwiększała ryzyko zgonu u pacjentek z mutacjami *TP53*, leczonych TP /SCN7A/. Warto podkreślić, iż zaburzenia w badanych genach wykazywały w większości powiązania nie tylko z zaburzeniami strukturalnymi *TP53*, ale także z zastosowanym schematem chemioterapii /TP, PC/. Analizując wyniki badań prezentowane w pracy warto zwrócić uwagę iż wykryto aż 18634 i 3136 nowych, wcześniej nieopisanych wariantów sekwencji o silnym lub pośrednim wpływie na strukturę i funkcje kodowanych białek, odpowiednio w rakach jajnika i guzach jajnika o granicznej złośliwości. Prezentowane dane otwierają możliwości poszukiwania markerów nowotworowych dla Naukowców badających nowotwory jajnika.

Dyskusja obejmując 14 stron wydruku komputerowego, porównuje uzyskane wyniki w odniesieniu do danych literatury naukowej. Dyskusja poprowadzona jest w sposób przejrzysty, wskazując na dużą wiedzę praktyczną Doktorantki, jak również znakomitą znajomość tematyki badań. Dokładna analiza znaczenia genów, które zostały wybrane jako potencjalne markery nowotworowe, wskazuje na złożony charakter tego nowotworu. Na podkreślenie zasługuje iż „oznaczenie ekspresji w/w 10 genów metodą RT-qPCR potwierdziło korelację tych wyników z wynikami analizy NCG RNA-seq”, wykazując wysoki stopień zgodności. Ważne jest także kontynuowanie badań w ramach projektu finansowanego ze środków NCN, co podkreśliła Doktorantka w Dyskusji.

Na stronie 187 maszynopisu Doktoranta zaprezentowała 7 wniosków wynikających z pracy. Autorka podkreśliła dużą heterogenność molekularną raków jajnika, wskazując na nowe lncRNA /LINC01876 i LINC02301/ jako potencjalne markery nowotworzenia.

Piśmiennictwo, w liczbie 225 pozycji, ułożone jest w kolejności numerycznej. Sugerowałbym cytowanie w manuskrypcie prac według pierwszego Autora i roku publikacji, ponieważ w pracy Autorka stosuje także ten sposób cytowania prac naukowych /strona 180/.

Analizując pracę całościowo, odnoszę wrażenie bardzo dużego, wręcz tytanicznego nakładu pracy Doktorantki /wyniki badań zajmują łącznie 94 strony maszynopisu!!!!/, która podjęła się trudu analizy tysięcy rekordów badawczych. Zasługuje to na szczególne uznanie.

Podsumowując uważam, iż przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Joanny Parady p.t. " Analiza transkryptomów raków jajnika, z uwzględnieniem długich

niekodujących RNA (lncRNA) – w poszukiwaniu nowych markerów molekularnych””
odpowiada w pełni merytorycznym i formalnym wymogom stawianym dysertacjom
doktorskim, zgodnie z art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i
tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789.)
oraz art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o
szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.). Biorąc pod uwagę
oryginalne wyniki wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-
Curie w Warszawie o dopuszczenie mgr Joanny Parady do dalszych etapów przewodu
doktorskiego. Zgłaszam także wniosek o wyróżnienie pracy. Wyróżnienie dysertacji
uważam na całkowicie uzasadnione biorąc pod uwagę prezentacje nowych markerów
molekularnych, których poziom ekspresji posiada istotne znaczenie prognostyczne lub
predykcyjne dla pacjentek chorujących na raka jajnika.

Andrzej Senczuk
Jubliński 8.10.2023.