



Łódź, dn. 3 sierpnia 2021 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Sosnowskiej
„Zbadanie roli arginazy i mechanizmów przeciwnowotworowego działania inhibitorów arginazy”

Praca doktorska mgr Anny Sosnowskiej została wykonana w Zakładzie Immunologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem prof. dr. hab. n. med. Jakuba Gołąba. Celem badań było scharakteryzowanie roli arginazy w procesie nowotworzenia, ze szczególnym uwzględnieniem nowotworów płuc oraz weryfikacja działania przeciwnowotworowego wybranych inhibitorów tego enzymu.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, przygotowana w języku angielskim, obejmuje łącznie 157 stron maszynopisu i przyjęła formę pracy monograficznej podzielonej klasycznie na 7 rozdziałów: Wstęp, Cele, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski oraz Literatura. Wyżej wymienione rozdziały zostały poprzedzone Listą rycin, Listą tabel, Spisem skrótów oraz Streszczeniem w języku polskim i w języku angielskim. Praca przygotowana została niezwykle starannie, bez większych błędów edycyjnych czy językowych, co nie jest ostatnio częste i za co należy się pochwała dla Doktorantki i Promotora.

We Wstępie Doktorantka przedstawiła bardzo rozległą, ale jednocześnie zwięzłą i sprawnie opisaną charakterystykę mikrośrodowiska nowotworu oraz rolę komórek układu odpornościowego w jego kreowaniu. Co ważne, opis przedstawiony przez Doktorantkę precyzyjnie wprowadza nas w zagadnienia doktoratu oraz cel i zakres badań naukowych; Doktorantka nie rozpisuje się zbyt szeroko na tematy, które w dalszej części znajdują się poza kręgiem jej zainteresowań badawczych, co świadczy o jej dużym szacunku dla czytelnika, ale jednocześnie też dobrej orientacji w reprezentowanym obszarze nauki. Doktorantka zachowała również prawidłowe proporcje w obrębie rozprawy, nie rozwlekając niepotrzebnie Wstępem kosztem pozostałych rozdziałów.

Kolejne podrozdziały Wstępu koncentrują się na roli argininy w fizjologicznych i patologicznych szlakach sygnałowych, a także zmianach w metabolizmie tego aminokwasu w trakcie nowotworzenia oraz poziomu argininy w tkankach prawidłowych i guza. Doktorantka opisuje również możliwości modulacji aktywności arginazy oraz poziomu argininy.

Do tego rozdziału (podobnie jak do dalszych części rozprawy) mam jedynie drobne uwagi: Doktorantka stosuje naprzemiennie skróty ARG i ARG1, choć ich rozwinięcie i znaczenie, wynikające z obecności izoenzymów, opisuje szczegółowo dopiero pod koniec omawianego rozdziału; ponadto, być może dobrym pomysłem byłoby omówienie obecnie dostępnych terapii, szczególnie w kontekście nowotworów płuc, ich zalet i wad, jako przeciwwagi dla nowatorskiego pomysłu, jakim jest zastosowanie inhibitorów arginazy; w tym

rozdziale lub w Dyskusji wskazałbym również na konieczność omówienia możliwych efektów ubocznych zastosowania omawianych inhibitorów. Pragnę jednak zauważyć, że poruszone przeze mnie kwestie są jedynie drobnymi usterkami i nie wpływają na pozytywną ocenę rozprawy.

Cele rozprawy zostały jasno i czytelnie określone. Co ważne, w części eksperymentalnej Doktorantka podjęła wszystkie deklarowane kierunki badań.

W rozdziale Materiały i Metody Doktorantka opisała warsztat badawczy, przy użyciu którego przeprowadziła doświadczenia. Prezentowany warsztat jest imponujący i należy pogratulować Doktorantce doskonałego opanowania metodologii, obejmującej hodowlę komórkowe oraz modele zwierzęce, a także techniki z obszaru biochemii i biologii molekularnej. Mój drobny zarzut dotyczący tej części rozprawy odnosi się do niekiedy zbytnej szczegółowości (np. rozdział 3.1.2. uważam raczej za niepotrzebny) lub ogólnikowości opisów (np. rozdział 3.6 i opis cytometrii przepływownej). Niemniej jednak szeroki wachlarz metod, którymi posłużyła się Doktorantka do realizacji badań, wzbudza niewątpliwie podziw.

Rozdział Wyniki podsumowuje dane doświadczalne uzyskane w trakcie badań. Doktorantka w czytelny sposób prezentuje rezultaty oznaczeń, popierając tekst właściwie dobranymi i odpowiednio przygotowanymi rycinami. Co istotne, wyniki badań układają się w kompletną historię, nie ma luk w prezentowanym materiale i nie odnosi się wrażenia, że pewne doświadczenia wymagają uzupełnień. W mojej opinii niepotrzebne jest jedynie zdublowanie paneli w rycinie 15 – jeśli dobrze odczytuję dane, panel B przedstawia wyniki znane już z panelu A. Ponadto, na rycinie 23 zabrakło danych dla poziomu L-argininy w osoczu, jak to zaprezentowano na rycinie 24.

Interesuje mnie również fenotyp, w tym behavior, myszy typu *knockout* – czy Doktorantka obserwowała zmiany w porównaniu z myszami typu *wildtype*? Ponadto, czy – w dalszej perspektywie, w warunkach klinicznych - wskazane byłoby ogólnoustrojowe wyłączenie ekspresji ARG, czy tylko miejscowe? Ciekawi mnie również z czego mogą wynikać różnice w efektywnych stężeniach ARG1 i ARG2, o których mowa w rozdziale 4.6. Z kolei chciałbym podkreślić „elegancję” eksperymentu opisanego w rozdziale 4.7, który wiele wnosi do naszej wiedzy o roli L-argininy w proliferacji komórek T.

W rozdziałach Dyskusja oraz Wnioski Doktorantka omawia najważniejsze obserwacje i osiągnięcia badawcze swojej pracy eksperymentalnej, wśród których wymienia m.in. skorelowanie poziomu ekspresji arginazy oraz poziomu L-argininy z procesem nowotworzenia oraz wykazanie działania przeciwnowotworowego wybranych inhibitorów enzymu w liniach komórkowych oraz w modelach zwierzęcych. Doktorantka zgłębiła również mechanizm leżący u podstaw wymienionej wyżej korelacji z uwzględnieniem komórek układu odpornościowego. Dyskusja jest bardzo dojrzała, a Doktorantka umiejętnie nawiązuje do doniesień literaturowych w kontekście znaczenia dokonanych przez siebie odkryć. Co ważne, odkrycia te zmieniają nasze spojrzenie na proces nowotworzenia i mogą wręcz zrewolucjonizować sposób leczenia wybranych chorób nowotworowych, wskazując

na inhibitory arginazy jako nowe potencjalne terapeutyki. Zabrakło wskazania słabych stron tych związków oraz odpowiedzi na pytanie czy konieczne jest uzyskanie wysokiej selektywności inhibitorów względem innych – niż arginaza - enzymów, ale ponieważ jest to praca biologiczna, nie zaś z obszaru chemii medycznej, ten drobny brak można w zupełności uznać za mało istotny. Tym bardziej, że kompletność rozprawy pod kątem zarówno merytorycznym, jak i badawczym jest bezsprzeczna.

W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Anny Sosnowskiej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) i składam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych WUM wniosek o jej przyjęcie i dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wysoki poziom merytoryczny recenzowanej rozprawy doktorskiej oraz potencjalnie duże znaczenie uzyskanych wyników dla świata nauki wnioskuję również o jej wyróżnienie.

KIEROWNIK
Zakładu Biochemii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Prof. dr hab. n. med. Jakub Fichna