



Klinika Hepatologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Katedra Chirurgii Ogólnej, Transplantacyjnej i Wątroby
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Centralny Szpital Kliniczny; 02-097 Warszawa, ul Banacha 1A

Tel +48-22-599-1662; fax: +48-22-599-1663

p.o. Kierownika Kliniki: dr hab. n. med. Joanna Raszeja- Wyszomirska

Email: hepatologia.csk@uckwum.pl www.hepatologia.org



European
Reference
Network
for rare or low prevalence
complex diseases

Warszawa, 2 stycznia 2023 r.

dr hab. n. med.

Joanna Raszeja-Wyszomirska

Klinika Hepatologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

ul. Banacha 1 a, 02-097 Warszawa

tel./fax. 22 599 16 62/63

Ocena rozprawy doktorskiej p. mgr Moniki Adamowicz pt.

**„Wpływ leków stosowanych w terapii chorób cholestatycznych wątroby
na poziom ekspresji wybranych miRNA”**

wykonanej pod kierunkiem naukowym Promotora

dr hab. n. zdr. Agnieszki Kempieńskiej-Podhorodeckiej

w Zakładzie Biologii Medycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie,
w Wydziale Nauk o Zdrowiu

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki o zdrowiu, stanowi 135 stron tekstu w twardej oprawie, z czego 68 stron to praca właściwa, na pozostałych znajdują się: strona tytułowa, informacja o pracach stanowiących cykl publikacyjny oraz źródłach ich finansowania, podziękowania, spis treści oraz objaśnienie skrótów stosowanych w pracy, a także streszczenia w języku polskim i angielskim. Manuskrypt ma układ typowy i składa się ze wstępu, opisu założeń i celów pracy, szczegółowej sekcji dotyczącej materiału i stosowanych metod, szerokiego opracowania wyników, dyskusji i wniosków oraz piśmiennictwa, a także spisu rycin i tabel. Doktorantka cytuje 217 pozycji piśmiennictwa, w kolejności pojawiania się ich w tekście pracy. Rozdział 10 stanowią załączniki – wersje oryginalne publikacji, składających się na niniejszy cykl, zgody Komisji Bioetycznej PUM w Szczecinie na przeprowadzenie opisanych badań i analiz oraz autoreferat Doktorantki.

Temat rozprawy doktorskiej Kandydatki uważam za ważki i ciekawy, a także zasadny klinicznie i praktycznie. Szczegółowe zapoznanie się z pracą pozwoliło mi na sformułowanie następującej oceny.

1. Wartość naukowa rozprawy

a) Oryginalność badań

Podstawą ubiegania się o stopień doktora przez Panią mgr Monikę Adamowicz jest monotematyczny cykl 3 prac, opublikowanych w latach 2021-2022, o łącznym współczynniku wpływu (IF) wynoszącym 16.5 punktów. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. Z załączonej monografii wynika, że Pani mgr Monika Adamowicz zarówno projektowała, jak i wykonywała doświadczenia *in vitro* oraz analizowała wyniki badań, co świadczy o bardzo dużym zaangażowaniu i samodzielności. W cyklu prac, Autorka

porusza trudny, ciekawy oraz bardzo istotny temat, związany z wpływem leczenia farmakologicznego na ekspresję miRNA, które są zaangażowane w patogenezę cholestatycznych chorób wątroby.

Doktorantka, za pomocą funkcjonalnych analiz *in vitro*, wykazała, że leki powszechnie stosowane w leczeniu pierwotnego zapalenia dróg żółciowych (PBC) i/lub pierwotnego stwardniającego zapalenia dróg żółciowych (PSC), tj. kwas ursodeoksycholowy (UDCA) oraz kwas 5-aminosalicylowy (5-ASA), modulują profil miR-125b, miR-150, miR-155, miR-346 i miR-506. Biorąc pod uwagę postawiony problem badawczy, jak również zaproponowaną metodykę badań, można stwierdzić, iż przedstawiona do oceny praca charakteryzuje się dużą oryginalnością, zarówno w zakresie przedmiotu badań, jak i w formie jej realizacji.

b) Wartość naukowa

Pierwszą publikację z cyklu jest: Adamowicz M, et al., pt. „*Suppression of Hepatic PPAR α in Primary Biliary Cholangitis Is Modulated by miR-155*” (Cells 2022, IF: 7.666), w której Autorka koncentruje się na badaniu receptora jądrowego - PPAR α - pełniącego rolę czynnika transkrypcyjnego, regulującego ekspresję licznych genów modulujących między innymi metabolizm tłuszczów, produkcję cytokin prozapalnych oraz chroniących przed rozwojem fibrogenezy. Jej badania wykazały, że ekspresja PPAR jest znacznie zmniejszona w wątrobie chorych na PBC. Co więcej, badania funkcjonalne *in vitro* na ludzkiej linii hepatocytów (HepG2) i cholangocytów (NHC) wykazały, że eksperymentalnie indukowana nadekspresja miR-155 lub miR-21 hamowała mRNA PPAR α w hepatocytach, podczas gdy w cholangiocytach tylko nadekspresja miR-21 prowadziła do supresji genu PPAR α . Kwas ursodeoksycholowy efektywnie redukował zarówno podstawową, jak i indukowaną

lipopolisacharydami ekspresję miR-155, zapobiegając supresji PPAR- α . Na tej podstawie określono nową biologiczną funkcję UDCA jako modulatora ekspresji PPAR- α .

Druga publikacja z cyklu, tj. Adamowicz M. et al., pt. „*5-aminosalicylic acid inhibits the expression of oncomiRs and pro-inflammatory microRNAs: an in vitro study*” (J Physiol Pharmacol. 2021, IF: 2.589), dotyczy działania 5-ASA - leku stosowanego w leczeniu wrzodziejącego zapalenia jelit, które to schorzenie współwystępuje z PSC. Badania in vitro prowadzone na linii komórkowej Caco-2 wykazały, że 5-ASA obniżając ekspresję miR-125b, miR-150, miR-155, miR-346 i miR-506 wpływa na istotną indukcję ich genów docelowych, jak receptor witaminy D (VDR), gen *SOC1* hamujący szlak sygnałowy cytokin (*SOC1*), gen *FOXO3* działającego supresorowo w nowotworzeniu w jelicie grubym Forkhead Transcription Factor O Subfamily Member 3a (*FOXO3*), czy gen metyltransferazy 1 DNA (*DNMT1*), a tym samym działa przeciwzapalnie i chemoprotekcyjnie.

W trzeciej publikacji pt. „*Modulation of Mismatch Repair and the SOCS1/p53 Axis by microRNA-155 in the Colon of Patients with Primary Sclerosing Cholangitis*”. (Int J Mol Sci. 2022, IF: 6.208) wykazano, że zwiększona ekspresja miR-155 może modulować geny naprawy niedopasowania (MMR) u chorych na PSC. miR-155 jest jednym z mikroRNA zaangażowanych zarówno w zapalenie, jak i raka jelita grubego. Znaczenie deregulacji miR-155 w zapaleniu jelita grubego wynika z jego roli komórkowej, jako inhibitora onkogennych genów supresorowych lub modulatora szlaków przeciwzapalnych. Wyniki pracy Doktorantki sugerują, że po pierwsze, miR-155 może promować karcynogenezę poprzez modulację osi SOCS1/p53 i wysoką niestabilność mikrosatelitarną (MSI-H), jak zaobserwowano w okrężnicy wstępującej pacjentów z PSC. Po drugie, przy braku nadekspresji miR-155, aktywowany szlak sygnałowy IL-6/S1PR1 wzmocnił przewlekłe zapalenie esicy u pacjentów z PSC-UC. Biologiczne znaczenie tych odkryć zostało potwierdzone w ludzkich liniach komórkowych jelit

in vitro. Wyniki zawarte w tym artykule mają znaczenie dla przyszłych badań miR-155, w kontekście jego udziału w etiopatogenezie, wczesnej diagnostyce, a także jego potencjalnej roli w terapii celowanej u pacjentów z PSC.

Podsumowując, trzy prace naukowe, opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych, dostarczają rzetelnych, kompleksowych informacji, w oparciu o solidne i zweryfikowane dane doświadczalne. Ponadto, przedstawiona do recenzji monografia wskazuje na właściwie dobrany warsztat badawczy, bardzo dobre i staranne przygotowanie do prowadzonych badań *in vitro*. Dodatkowo, rozprawa doktorska zawiera przejrzystą, właściwie dobraną do prezentowania określonego typu wyników, dokumentację graficzną.

2. Wartość merytoryczna rozprawy

Praca doktorska Pani mgr Moniki Adamowicz jest wynikiem prowadzonych badań w ramach dwóch projektów naukowych: Regionalnej Inicjatywy Doskonałości 002/RID/2018/19 oraz Narodowego Centrum Nauki 2020/39/O/NZ4/01732.

Recenzowana monografia napisana została w klasycznym układzie. W sekcji Wstęp przytoczone treści bardzo dobrze wprowadzają czytelnika w zagadnienia związane ze znaczeniem miRNA w patogenezie chorób cholestatycznych wątroby oraz możliwości modulacji miRNA przez leki. Obszerność tej sekcji świadczy o rzetelnym przygotowaniu się Doktorantki do prowadzonych badań i znajomości tematu. Odwołania literaturowe są adekwatne do podjętej tematyki, a cytowane piśmiennictwo odnosi się do dokonań zespołów badawczych, odpowiednio przedstawiając aktualny stan wiedzy w tym zakresie. W monografii bardzo rzetelnie postawiono trzy założenia, które zostały odpowiednio potwierdzone i poparte wynikami pracochłonnych eksperymentów. Kolejne rozdziały pracy przedstawiają przyjętą metodykę wraz z opisem aparatury badawczej. Redakcja tej sekcji

świadczy z kolei o znakomitej znajomości tematu i warsztatu badawczego Kandydatki. Przeprowadzone analizy i uzyskane wyniki są ściśle związane z realizacją celów szczegółowych oraz mają bardzo istotny wkład w dyskusję dotyczącą znaczenia funkcjonalnych badań w zakresie:

(1) modulacji miR-125b, miR-150, miR-155, miR-346 i miR-506 przez UDCA i 5-ASA w regulacji ekspresji docelowych transkryptów mRNA o znaczeniu strategicznym w patogenezie cholestatycznych chorób wątroby;

(2) hamowaniu ekspresji miR-155 przez lek UDCA, co zapobiega obniżeniu ekspresji PPAR α , a tym samym poszerza wskazania dla leku stosowanego w leczeniu PBC;

(3) roli leku 5-ASA w sygnalizacji miR-155, w prewencji raka jelita grubego wykazującego wysoki stopień niestabilności mikrosatelitarnej u chorych na PSC.

3. Poprawność redakcyjna rozprawy

Monografia wraz ze wszystkimi załącznikami liczy 135 stron. Zaprezentowany, klasyczny układ jest typowy dla prac doświadczalnych. Praca charakteryzuje się jednolitym stylem tekstu, formą 7 tabel i 14 rycin oraz 217 pozycji literaturowych.

4. Uwagi krytyczne

Trzy prace naukowe, które stanowią podstawę ubiegania się o stopień doktora, były opublikowane w recenzowanych czasopismach, o wysokim współczynniku wpływu, dlatego trudno doszukiwać się w nich uwag krytycznych.

5. Ocena końcowa

Monografia ma charakter doświadczalny, wykorzystuje nowoczesny warsztat aparaturowy, co potwierdza nabycie odpowiednich kompetencji do prowadzenia badań naukowych przez Doktorantkę. Cykl 3 publikacji oraz monografia zawierają wyjątkowo inspirujące sugestie i perspektywy dalszych badań. Prace poruszają bardzo istotne problemy kliniczne, wskazując możliwości poszerzenia wskazań do stosowania znanych leków, co być może przełoży się na skrócenie czasu i kosztów związanych z wdrożeniem kolejnej, nowej cząsteczki leczniczej. Uwzględniając powyższe stwierdzenia wskazuję, iż ocena końcowa recenzowanej rozprawy doktorskiej jest w pełni pozytywna, a praca jest oryginalnym i wartościowym dorobkiem Doktorantki i Ośrodka, z którego pochodzi.

Recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Moniki Adamowicz

pt. „**Wpływ leków stosowanych w terapii chorób cholestatycznych wątroby na poziom ekspresji wybranych miRNA**”

spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 poz.1668 z późn. zmianami) w związku z czym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie Pani mgr Moniki Adamowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wartość punktów IF = 16,5 dla trzech publikacji cyklu, stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora, aktualność przedstawionej rozprawy doktorskiej, jej innowacyjność oraz bardzo wysokie walory merytoryczne, wnioskuję o wyróżnienie niniejszej pracy doktorskiej.

2 stycznia 2023r

data sporządzenia recenzji

Grzegorz Wykowski

podpis recenzenta