

Łódź, 28.08.2024

Dr hab. n. med. Edyta Borkowska
Zakład Genetyki Klinicznej
Katedra Genetyki Klinicznej i Laboratoryjnej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

R E C E N Z J A

Rozprawy doktorskiej **Pana Mgr Łukasza Szymona Biegały**
pt.: " Wykorzystanie szlaku kinazy ATR/CHK1 w celu zwiększenia efektywności
terapii olaparibem.
Porównanie efektów terapeutycznych w modelu in vitro oraz in vivo
raka jajnika opornego na leczenie inhibitorem PARP"

Praca została wykonana pod opieką Pani dr hab. Anety Rogalskiej, prof. Uł (promotor) i Pana Dr Arkadiusza Gajka (promotor pomocniczy) w Katedrze Biofizyki Medycznej Instytutu Biofizyki Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Badania przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej sfinansowane zostały z dwóch projektów :

1. Projekt badawczy Sonata BIS 9 nr 2019/34/E/NZ7/00056
2. Dofinansowania w ramach działalności naukowej doktorantów Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uł w latach 2021–2024.

Układ rozprawy doktorskiej

Badania zaprezentowane w przedstawionej do oceny pracy powstały w wyniku wielodyscyplinarnej współpracy z Zakładem Biochemii Kwasów Nukleinowych oraz Zakładem Genomiki Funkcjonalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, a także z Zakładem Genetyki i Zakładem Immunoterapii Eksperymentalnej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej Curie.

Układ pracy jest standardowy dla prac badawczych. Autor zamieścił spis publikacji składających się na dysertację (str.6), wykaz doniesień konferencyjnych, informacje o przyznanych nagrodach, informacje o innych aktywnościach związanych z podejmowaniem współpracy z biznesem i szkoleniami, informację o przynależności do towarzystw naukowych, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów. Zasadnicza część rozprawy rozpoczyna się od wstępu teoretycznego (str.17), po czym autor przedstawia cele pracy, materiały i metody, wyniki i dyskusje, którą podzielono na cztery etapy

analogiczne do przeprowadzonych badań, podsumowanie i wnioski oraz bibliografię. W kolejnych rozdziałach autor dołącza kopie artykułów składających się na dysertację oraz oświadczenia współautorów o ich wkładzie w powstanie wymienionych publikacji.

W mojej ocenie rozprawa spełnia pod względem formalnym wymogi ustawowe.

Ocena merytoryczna

Na dysertację składa się cykl 4 publikacji i manuskrypt pracy przygotowanej do opublikowania. Pierwsza z prac jest pracą przeglądową a pozostałe są pracami eksperymentalnymi. Wszystkie z wymienionych prac są opracowaniami zbiorowymi. Pan Mgr Łukasz Szymon Biegała w każdej z nich jest pierwszym autorem, a jego udział w powstawaniu prac jest znaczący 60-75%. Każda z prac ukazała się w czasopiśmie o wysokiej punktacji MNiSW oraz współczynnika oddziaływania (Sumaryczny Impact Factor – IF wynosi 28,014, zaś punktacja MNiSW jest równa 620).

Publikacja przeglądowa

1. Biegała Ł., Gajek A., Marczak A., Rogalska A. PARP inhibitor resistance in ovarian cancer: Underlying mechanisms and therapeutic approaches targeting the ATR/CHK1 pathway. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2021. 1876(2):188633. doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188633.

Punkty MNiSW = 200 pkt, IF = 11,414 (2-letni)

Publikacje doświadczalne

2. Biegała Ł., Gajek A., Marczak A., Rogalska A. Olaparib-resistant BRCA2MUT ovarian cancer cells with restored BRCA2 abrogate olaparib-induced DNA damage and G2/M arrest controlled by the ATR/CHK1 pathway for survival. *Cells*. 2023. 12(7):1038. doi: 10.3390/cells12071038.

Punkty MNiSW = 140 pkt, IF = 6,0

3. Biegała Ł., Gajek A., Szymczak-Pajor I., Marczak A., Śliwińska A., Rogalska A. Targeted inhibition of the ATR/CHK1 pathway overcomes resistance to olaparib and dysregulates DNA damage response protein expression in BRCA2MUT ovarian cancer cells. *Sci Rep*. 2023. 13(1):22659. doi: 10.1038/s41598-023-50151-y.

Punkty MNiSW = 140 pkt, IF = 4,6

4. Biegała Ł., Kołat D., Gajek A., Płuciennik E., Marczak A., Śliwińska A., Mikula M., Rogalska A. Uncovering miRNA–mRNA Regulatory Networks Related to Olaparib Resistance and Resensitization of BRCA2MUT Ovarian Cancer PEO1-OR Cells with the ATR/CHK1 Pathway Inhibitors. *Cells*. 2024. 13(10):857. doi: 10.3390/cells13100867.

Punkty MNiSW = 140 pkt, IF = 6,0

Nieopublikowany manuskrypt artykułu doświadczalnego

5. Biegała Ł., Statkiewicz M., Gajek A., Szymczak-Pajor I., Rusetska N., Śliwińska A., Marczak A., Mikula M., Rogalska A. Olaparib rechallenge combined with the ATR/CHK1 pathway inhibitors in olaparib-resistant PDX models of ovarian cancer: Mechanisms behind synergistic tumor growth inhibition.

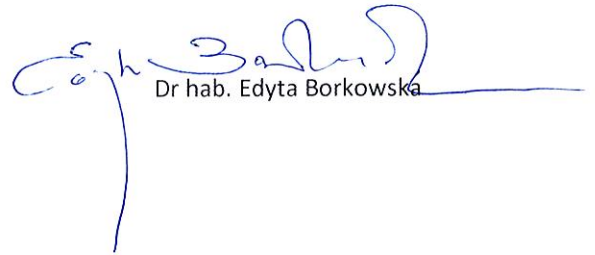
Przełamywanie oporności na olaparib w komórkach raka jajnika z wariantami patogennymi *BRCA2* jest intensywnie badane, ponieważ oporność ta stanowi istotne wyzwanie w terapii. W etapie pierwszym swoich badań Autor podjął się określenie mechanizmów związanych z rozwojem oporności na olaparib w warunkach *in vitro* w komórkach raka jajnika oraz porównał odpowiedź komórek wrażliwych i opornych na chemioterapeutyk na działanie połączone olaparibu z inhibitorami szlaku ATR/CHK1. Następnie dokonał analizy potencjału przeciwnowotworowego połączenia olaparibu z inhibitorami szlaku ATR/CHK1 w komórkach raka niewrażliwych na olaparib w warunkach *in vitro*. W etapie trzecim ocenił rolę cząsteczek miRNA w nabywaniu oporności na olaparib. Zwieńczeniem badań była analiza potencjału terapeutycznego połączenia olaparibu z inhibitorami szlaku ATR/CHK1 w kontekście uwrażliwienia komórek raka jajnika na olaparib w warunkach *in vivo*. Najważniejsze wnioski dotyczą potwierdzenia obniżonej wrażliwości komórek raka jajnika na inhibitory PARP, w tym rewersję mutacji w genie *BRCA2*, czy nadekspresję białek odpowiadających za poprawne działanie naprawy uszkodzeń DNA oraz synergistycznego działania cytotoksycznego olaparibu w połączeniu z inhibitorami szlaku ATR/CHK1 w komórkach raka jajnika zarówno wrażliwych jak i opornych na olaparib. Zmieniony profil ekspresji miRNA powiązано istotnie czasem przeżycia pacjentek z rozpoznaniem rakiem jajnika, co może w przyszłości mieć znaczenie predykcyjne i prognostyczne. Wszystkie wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie o wysokiej punktacji MNISW, a także wskaźniku IF.

Wniosek końcowy:

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska jest spójnym merytorycznie i metodycznie cyklem prac mających na celu określenie mechanizmów związanych z rozwojem oporności na olaparib w komórkach raka jajnika *in vitro* i porównanie odpowiedzi komórek wrażliwych i opornych na olaparib oraz na działanie łączone olaparibu z inhibitorami szlaku ATR/CHK1. Wyniki badań Pan Mgr Łukasza Szymona Biegały nad ukierunkowanym hamowaniem wyżej wymienionego szlaku ATR/CHK1, skupiają się na tym, jak hamowanie tych białek wpływa na odpowiedź na uszkodzenia DNA, szczególnie w komórkach nowotworowych. ATR (ataksja-teleangiektazja i związane z Rad3) i CHK1 (kinaza punktu kontrolnego 1), które są kluczowymi regulatorami cyklu komórkowego i mechanizmów naprawy DNA. Badania Pana Mgr Łukasza Biegały nad odkrywaniem sieci regulacyjnej miRNA-mRNA koncentrowały się na zrozumieniu, w jaki sposób mikroRNA regulują ekspresję genów poprzez ukierunkowanie na mRNA. Ta sieć regulacyjna jest kluczowa dla kontrolowania różnych procesów biologicznych, w tym rozwoju komórek, różnicowania i progresji choroby. Mapując te interakcje, Doktorant zamierzał zidentyfikować kluczowe miRNA i ich docelowe mRNA, co może mieć znaczenie dla zrozumienia rozwoju chorób, takich jak rak jajnika, i opracowania nowych strategii terapeutycznych. Praca ta obejmuje analizę bioinformatyczną, walidację eksperymentalną i badania funkcjonalne w celu wyjaśnienia złożonych mechanizmów regulacyjnych co czyni ją kompleksowo zaplanowaną i przeprowadzoną.

W mojej ocenie Doktorant zrealizował wszystkie założone cele badawcze, a rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. W związku z powyższym zwracam się z prośbą do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie Pana Mgr Łukasza Szymona Biegałę do dalszych etapów postępowania doktorskiego oraz publicznej obrony pracy doktorskiej.

Biorąc pod uwagę wysoką wartość przeprowadzonych badań, które wpisują się w najbardziej aktualne kierunki poszukiwań celów terapeutycznych w walce z nowotworami, oraz ich istotne znaczenie dla rozwoju współczesnej onkologii, wnioskuję o wyróżnienie tej rozprawy doktorskiej. Badania te są kluczowe dla opracowania metod przełamania oporności oraz poprawy skuteczności terapii u pacjentek z patogennymi wariantami genu *BRCA2*.



Dr hab. Edyta Borkowska