

Recenzja rozprawy doktorskiej Eweliny Pilny pt. „Właściwości proangiogeniczne mezenchymalnych komórek zrębu izolowanych z ludzkiej tkanki tłuszczowej ADSC”

Pierwszym wrażeniem, które towarzyszy lekturze pracy przez chemika jest zaskoczenie, że może się ona mieścić w domenie chemii, tym bardziej, że Autorka pracy takiego wyjaśnienia w pracy nie przedstawia *explicite*. Rozpocznę wobec tego od wyjaśnienia tego problemu. Jesteśmy świadkami rosnącego znaczenia badań interdyscyplinarnych. Oznacza to konieczność rozszerzenia domeny studiów poszczególnych dyscyplin nauki. W tym kontekście warto zwrócić uwagę na rosnącą trudność w zdefiniowaniu przedmiotu zainteresowań konkretnych dyscyplin. I tak na przykład jaka jest różnica w domenie badań biofizyki i biologii, chemii medycznej i biofizyki, czy biochemii. Aby zrozumieć te różnice przyjrzyjmy się tak zwanej piramidzie nauk (Polanski, et al., *Ligand Potency, Efficiency and Drug-likeness: A Story of Intuition, Misinterpretation and Serendipity*, *Current Protein and Peptide Science* 20 (2019) 1069-1076). Zauważono, że w celu redukcji złożoności przedmiotu swoich badań, narzędzia badawcze nauk mieszczących się na górze piramidy używają nauk ulokowanych niżej. I tak na przykład chemia redukuje się do fizyki, biologia do chemii. Całość piramidy rozpina się między fizyką a ekonomią obejmując fizykę, chemię, biologię medycynę i psychologię i w końcu na samej górze ekonomię. Współczesna ekonomia (tzw. behawioralna) wymaga analizy wielu złożonych efektów związanych np. z psychologią czy fizjologią mózgu, a jej twórca Dawid Kahneman jest laureatem Nobla. Wbrew naszej intuicji złożoność analizowanych efektów i danych rośnie i jest wyższa w biologii czy medycynie niż na przykład w chemii czy fizyce. To na górze piramidy spotykamy najbardziej złożone wielkie dane (big data). Zastanówmy się teraz nad różnicą w przedmiocie badań fizyki i

chemii. Zarówno w obrębie jednostek uprawiających fizykę jak i chemię znaleźć możemy na przykład komórki zajmujące się krystalografią. Publikują one prace w tych samych czasopismach, zajmując się w zasadzie identycznymi obiektami badań. Fizyka bada na przykład spadek kuli lub jej ruch po równi pochyłej. Można by więc pomyśleć że przedmiotem badań fizyki są duże obiekty podczas gdy chemia zajmuje się małymi cząsteczkami. Różnica ta jednak nie jest decydująca i łatwo ją sfalsyfikować. W obrębie zainteresowania fizyki znajdują się bowiem cząstki elementarne, które są mniejsze niż atomy. W istocie różnicę między przedmiotem badań chemii i fizyki można sprowadzić do dostępności twardych danych opisujących badane obiekty. Fizyka zajmuje się dobrze dostępnymi zdefiniowanymi danymi. Im wyżej w piramidzie nauki tym dane są słabiej zdefiniowane. Ruch i efekty związane z cząstkami elementarnymi są dobrze zdefiniowane. W przeciwieństwie do tego wiele efektów związanych z substancją chemiczną może być opisanych znacznie mniej precyzyjnie. W tym kontekście chemia jest nauką *miękką* - fizyka – *twardą*. Taki opis wyjaśnia czym zajmuje się biofizyka, która jest domeną fizyki, to biologia lub fizjologia z dobrze zdefiniowanymi danymi. Im wyżej w piramidzie tym bardziej złożone dane i w związku z tym mniejsza precyzja badań. Jeżeli w takim kontekście przyjrzymy się biologii i chemii to szybko możemy zidentyfikować podstawową różnicę w obszarach, w których ich domeny nakładają się. Generalnie biologia zatrzymuje się na opisie komórkowym, podczas gdy chemia opisuje efekty komórkowe z rozdzielczością molekularną, operując danymi precyzyjniejszymi niż robi to biologia.

Na stronie 62 doktorantka formułuje cel pracy, którym jest ocena zdolności ludzkich komórek hADSC do naprawy uszkodzonego niedokrwiennego mięśnia myszy. W szczególności w zakresie pracy Doktorantka deklaruje izolację i charakterystykę hADSC, badanie roli hADSC w naprawie badanych mięśni, wyjaśnienie mechanizmu takiej naprawy oraz badanie zdolności do wspomaganiania angiogenezy w zależności od ilości wydzielanej interleukiny-6 (IL-6).

Myślę, że znowu ważnym zagadnieniem jest odnalezienie chemicznego rdzenia badań Doktorantki. I tak izolacja i charakterystyka odpowiednich komórek jest częścią metodyki recenzowanej pracy. Analiza tej części pracy pozwala uświadomić sobie jak

bardzo złożone są układy badane przez Doktorantkę. W tym kontekście warto podać za Autorkę informację (str. 2), że badania wykonane zostały w Centrum Badań translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów w Narodowym Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w G-cach. Laboratorium z pewnością dysponuje wiedzą, doświadczeniem i sprzętem koniecznym do badań biologii komórek. Biologia jest w tym wypadku dominującym kierunkiem badań. Biologię rozumiemy przy tym jako złożony system chemiczny. W układzie tym Doktorantka manipuluje ilością interleukiny 6 (IL-6) by zbadać odpowiednie naprawcze reakcje angiogenezy. W tym wypadku komórki ADSC stanowią, jak pisze Autorka (str. 112) swoistego rodzaju bioreaktory syntezujące *in situ* i dozujące IL-6 do układu. Najważniejszym wynikiem recenzowanej pracy jest wykazanie przez Doktorantkę że ludzkie mezenchymalne komórki zrębu izolowane z tkanki tłuszczowej po wprowadzeniu do uszkodzonej tkanki są zdolne do wydzielania IL-6. Cytokina ta aktywuje makrofagi o fenotypie M2, które aktywują procesy naprawcze uszkodzonego mięśnia oraz powstawanie nowych naczyń krwionośnych. W bardziej ogólnym w sensie doktorantka zajmuje się projektowaniem nowej terapii opartej na IL-6. W takim układzie IL-6 odgrywa rolę potencjalnego leku. Takie leki określa się jako biologiczne (biologics). Projektowanie leków staje się centralnym problemem chemii, przy czym leki biologiczne są jego szczególnie istotnym elementem. Wystarczy krótki przegląd Chemical Engineering and News Amerykańskiego Towarzystwa Chemicznego (np. *COVID-19 vaccines and antibodies advance even faster than expected* JUNE 19, 2020 VOLUME 98, ISSUE 24). Cele działania leków - receptory, które wraz z lekami tworzą złożone systemy biologiczne są ważnym przedmiotem badań współczesnej chemii. Doktorantka wprowadza do komórek IL-6 jako ksenobiotyk syntezowany *in situ* poprzez inne komórki, zdolne do jego wytwarzania *in vivo*. Inną manipulacją, którą testuje Doktorantka jako potencjalną metodę kontroli poziomu IL-6 jest użycie jako dodatku desferoksaminy oraz Siltuximabu. Zgodnie z testowaną hipotezą Siltuximab, przeciwciało, które specyficznie blokuje ludzką IL-6, powoduje obniżenie poziomu makrofagów o fenotypie M2 oraz zmniejszenie liczby powstających naczyń krwionośnych. Z kolei desferoksamina, pomimo tego, że *in vitro* zwiększa wydzielanie IL-6, w badanych systemach nie prowadzi do podobnego efektu *in vivo*. Upraszczając jeszcze bardziej ten obraz, można

powiedzieć, że doktorantka projektuje potencjalną terapię, wykorzystując komórki ADSC jako specyficzny prolek zdolny do wytworzenia IL-6 w układzie in vivo.

Ciekaw jestem, czy Doktorantka zgadza się z takim sposobem interpretacji wyników pracy. Czy w związku z tym widzi możliwość przedstawienia wyników w ten właśnie sposób. Moim zdaniem byłby on dla chemika znacznie bardziej zrozumiały i przekonujący. Jaki mógłby być odpowiedni tytuł pracy? Pojawiają się też ważne pytania, czemu np. nie można wprowadzać bezpośrednio samego IL-6. Peptydy (peptydomimetyki) są przecież przedmiotem zainteresowania jako potencjalne leki. W dziedzinie chemii są to zagadnienia nieznane i warte przedyskutowania. W kontekście chemii leków IL-6 stanowi najczęściej cel działania leku, a nie lek (Ernest H. Choy, et al. Nature Reviews Rheumatology volume 16, 335–345(2020)).

Konstrukcja recenzowanej rozprawy jest typowa dla pracy doktorskiej. Praca liczy 137 stron. Składa się ze wstępu, w którym Autorka przedstawia przegląd literatury, celu pracy, części eksperymentalnej (materiały i metody), opisu badań własnych (wyniki i dyskusja), wniosków oraz spisu literatury. Autorka cytuje 213 pozycji literaturowych, z których większość to literatura z ostatnich lat. Praca obejmuje także spis dorobku naukowego Doktorantki. We wstępie wprowadza czytelnika w problemy związane z chemią i biologią badanych układów komórkowych. Omawia na przykład wydzielane w takich układach białka (np. sekretom mezenchymalnych komórek zrębu MSC) oraz terapie, w których wykorzystuje się komórki MSC oraz ADSC (komórki MSC izolowane z tkanki tłuszczowej) w fazie badań klinicznych str. 30 oraz 33. Część literaturowa jest napisana bardzo dobrze. Czyta się ją z zainteresowaniem a czytelnik otrzymuje dobre wprowadzenie do problemów analizowanych części badań własnych.

Pracę oceniam bardzo wysoko. Jest to interesujące studium które mieści się w najnowszych trendach chemii medycznej oraz chemii biologicznej. Jest także głęboko osadzone w tak zwanej medycynie translacyjnej. O wysokiej wartości pracy świadczy także dorobek Doktorantki która jest współautorką 6 publikacji w dobrych czasopismach naukowych. Wszystkie publikacje ukazały się w czasopismach o wysokich IF (100-140 pkt MNiSW). Jest jednak pierwszą Autorką tylko w jednej z tych publikacji. Szkoda

więc, że formalnie praca nie spełnia wymogów wyróżnień Rady Wydziału Chemicznego (Uchwała 91/2016/2017). Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka jest laureatką grantu Preludium. Praca napisana jest bardzo dojrzałym językiem. Trudno mi znaleźć jakieś nieprzemyślane fragmenty czy błędy. Prezentowane wyniki są także prawidłowo opracowane pod względem statystycznym.

Przedstawiłem powyżej bardzo skrótowo treści recenzowanej pracy. Stanowi ona głęboko przemyślane studium projektowania nowej terapii w oparciu o potencjalny lek (drug candidate) IL-6 wydzielany in vivo przez swoisty bioreaktor jakim jest komórka h-ADSC. Jest istotną innowacją oraz ważnym wkładem nowej wiedzy w obszarze chemii biologicznej IL-6.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę o stopniach i tytułach naukowych, w związku z czym wnoszę o dopuszczenie pani Eweliny Pilny do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

