



Katedra i Klinika Otolaryngologii, Chirurgii Głowy i Szyi
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
Kierownik: dr hab. n med. Tomasz Zatoński, prof. nadzw.

ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław, tel. +48 717343700

Wrocław , dn. 01 kwietnia 2025

Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr Kamili Ostrowskiej pt. „Rola genu METLL3 oraz procesu metylacji RNA w rozwoju płaskonabłonkowego raka głowy i szyi”.

Mgr Kamila Ostrowska wskazała jako podstawę dzieła naukowego stanowiącego dorobek naukowy do ubiegania się o stopień doktora nauk medycznych cykl 3 publikacji pod wspólnym tytułem: „Rola genu METLL3 oraz procesu metylacji RNA w rozwoju płaskonabłonkowego raka głowy i szyi”.

Doktorantka jest absolwentką kierunku Biotechnologia na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu (2019), gdzie zrealizowała wyróżniającą się pracę magisterską dotyczącą roli metylacji DNA genu HIF-3 α w raku jelita grubego. Już na etapie studiów wykazała się dużym potencjałem badawczym, czego dowodem jest otrzymanie Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za wybitne osiągnięcia. W latach 2019–2020 realizowała projekt finansowany przez Polskie Towarzystwo Nowotworów Głowy i Szyi oraz odbyła staż w Pracowni Radiobiologii Wielkopolskiego Centrum Onkologii. Uczestnicząc w Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, pozyskała granty PRELUDIUM NCN (numer umowy: 2020/37/N/NZ5/02872) oraz Grant Wielkopolskiego Centrum Onkologii (numer umowy: 31/08/2020/PRB/WCO/008), którymi finansowała prowadzone badania nad rolą metylacji RNA, ze szczególnym uwzględnieniem enzymu METTL3, w patogenezie płaskonabłonkowego raka głowy i szyi.

Doktorantka ma na swoim koncie 16 publikacji naukowych (łączny IF: 39,9; 1260 pkt. MNiSW), cytowanych 45 razy (bez autocytowań), a jej indeks Hirscha wynosi 3 (dane z Web of Science). Brała aktywny udział w 7 konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych. Jest członkinią Polskiego Towarzystwa Nowotworów Głowy i Szyi. W 2023 roku została laureatką prestiżowego stypendium NAWA im. Mieczysława Bekkera, w ramach którego prowadzi badania na Uniwersytecie Weill Cornell Medicine w Nowym Jorku nad modelowaniem adaptacji metastatycznych.

Przedstawiony do recenzji cykl składa się z 3 spójnych tematycznie artykułów oryginalnych, których doktorantka jest pierwszą autorką. W 2 pracach autorka występuje pod nazwiskiem panieńskim.

Prace cyklu zostały opublikowane w czasopismach z listy JCR (Journal Citation Reports – „listy filadelfijskiej”) z współczynnikiem wpływu IF. Łączna wartość IF to 13,556 pkt, a punktacja MNiSW wynosi 270 pkt.

Kierunkiem badawczym podjętym w cyklu publikacji była ocena znaczenia metylacji RNA, a w szczególności roli genu METTL3, w patogenezie płaskonabłonkowego raka głowy i szyi (HNSCC) oraz w odpowiedzi komórek nowotworowych na leczenie przeciwnowotworowe. HNSCC, jako jeden z najczęściej występujących nowotworów złośliwych na świecie, nadal charakteryzuje się niską skutecznością leczenia i niezadowalającym odsetkiem przeżyć pięcioletnich. W świetle dynamicznego rozwoju badań nad mechanizmami epigenetycznymi, autorka pracy skupiła się na wewnętrznej modyfikacji RNA — metylacji adenozyiny w pozycji N6 (m6A) — jako potencjalnym elemencie regulującym ekspresję genów i funkcjonowanie komórek nowotworowych.

Dla realizacji celu badania autorka przyjęła następujące cele szczegółowe:

1. Porównanie poziomu metylacji RNA N6-metyloadenozyiny w tkankach nowotworowych i tkankach z wolnego marginesu pooperacyjnego pobranych od chorych z płaskonabłonkowym rakiem głowy i szyi oraz modelu *in vitro* z wykorzystaniem spektrometrii masowej z chromatografią cieczową i jonizacją przez elektrorozpylanie.
2. Oznaczenie poziomu ekspresji głównego enzymu odpowiedzialnego za metylację RNA-metylotransferazy 3 (METTL3) w tkankach nowotworowych i tkankach z wolnego marginesu pooperacyjnego pobranych od chorych z płaskonabłonkowym rakiem głowy i szyi oraz modelu *in vitro*.
3. Ocenę biologiczną wpływu wyciszenia genu METTL3 w modelach *in vitro* płaskonabłonkowego raka głowy i szyi na potencjał proliferacyjny, apoptotyczny, obecność markerów macierzystości oraz odpowiedzi na chemioterapię.

Pierwsza publikacja cyklu zamieszczona w czasopiśmie *Diagnostics* (IF: 3,992, MNiSW: 70), stanowi przegląd aktualnej wiedzy na temat epigenetycznych modyfikacji związanych z patogenezą raka płaskonabłonkowego głowy i szyi. Doktorantka przedstawia wielowymiarową analizę mechanizmów epigenetycznych, takich jak metylacja DNA, modyfikacje histonów, aktywność niekodujących RNA oraz, szczególnie istotną dla dalszych prac autorki metylację RNA. Publikacja ta stanowi fundament teoretyczny dla kolejnych badań eksperymentalnych przedstawionych w cyklu dysercacyjnym. Wpisuje

się w nurt poszukiwania nowych biomarkerów oraz celów terapii personalizowanej w onkologii głowy i szyi. Przede wszystkim stanowi doskonałe wprowadzenie dla czytelnika i równocześnie potwierdza ekspercką wiedzę doktorantki pozwalającą na kontynuowanie jej badań.

Druga publikacja cyklu, opublikowana w czasopiśmie *Biomolecules* (IF: 6.064, MNiSW: 100), prezentuje wyniki badań ilościowych nad poziomem metylacji m6A w RNA oraz ekspresją genów związanych z tym procesem w rakach płaskonabłonkowych głowy i szyi. Celem pracy było określenie poziomu modyfikacji m6A w całkowitym RNA oraz poziomu mRNA dla kluczowych genów związanych z metylacją RNA: metylotransferazy (METTL3), demetylazy (FTO) oraz białek rozpoznających modyfikację (YTHDF2, YTHDC2). Badaniami objęto próbki nowotworowe i sparowane tkanki niezmienione histopatologicznie od 45 pacjentów z HNSCC oraz cztery linie komórkowe: FaDu, Detroit 562, A-253 i SCC-15. Wyniki nie wykazały istotnych różnic w globalnym poziomie m6A ani w ekspresji badanych genów między tkankami nowotworowymi a zdrowymi. Co jednak istotne, stwierdzono istotne dodatnie korelacje między poziomem m6A a ekspresją METTL3, FTO, YTHDF2 i YTHDC2 wyłącznie w tkankach nowotworowych, co sugeruje udział tych genów w patogenezie HNSCC. Dodatkowo wykazano zróżnicowaną ekspresję METTL3, FTO i YTHDC2 pomiędzy analizowanymi liniami komórkowymi, co może odzwierciedlać różnice zależne od lokalizacji guza.

W ostatniej pracy cyklu opublikowanej w czasopiśmie *Frontiers in Oncology* (IF: 3.500, MNiSW: 100) doktorantka przedstawia wyniki badań funkcjonalnych dotyczących wpływu wyciszenia genu METTL3 na odpowiedź komórek raka płaskonabłonkowego głowy i szyi (HNSCC) na leczenie cisplatyną. W badaniu wykorzystano trzy linie komórkowe HNSCC (FaDu, Detroit-562 i H103), odpowiadające różnym lokalizacjom anatomicznym nowotworu. Za pomocą systemu CRISPR-Cas9 uzyskano stabilne klony komórkowe z obniżoną ekspresją METTL3, którą potwierdzono na poziomie białka i mRNA. Skuteczność wyciszenia genu potwierdzono również poprzez zmniejszenie poziomu metylacji m6A RNA (dot-blot, immunofluorescencja). Publikacja wskazuje na dwuznaczną rolę METTL3 — jako potencjalnego czynnika zarówno uwrażliwiającego, jak i sprzyjającego oporności na cisplatynę — zależnie od typu komórek i lokalizacji guza. Wyniki te stanowią istotny wkład w zrozumienie mechanizmów molekularnych odpowiedzi na leczenie i mogą przyczynić się do opracowania bardziej precyzyjnych strategii terapeutycznych w HNSCC.

Cykl trzech publikacji cechuje spójność tematyczna i logiczna. Badania koncentrują się nad rolą metylacji RNA, a zwłaszcza enzymu METTL3, w patogenezie i terapii raka płaskonabłonkowego głowy i szyi. Pierwsza praca stanowi przegląd literatury i uzasadnienie podjętej tematyki. Druga dostarcza danych ilościowych na poziomie klinicznym i komórkowym, wskazując zależności między poziomem m6A a ekspresją genów maszynerii metylacyjnej. Trzecia, eksperymentalna publikacja pogłębia temat,

analizując funkcjonalne skutki wyciszenia METTL3, potwierdzając jego znaczenie w odpowiedzi na cisplatynę i potencjalnej oporności terapeutycznej.

Brakuje mi w tekście dysertacji wniosków, które można by odnieść do postawionych przez doktorantkę celów. Recenzent może odnaleźć te wnioski w załączonych publikacjach, natomiast wyszczególnienie ich w tekście zwiększyłoby czytelność rozprawy i stanowiło ułatwienie dla czytelnika.

W układzie pracy doktorskiej należy zaznaczyć obecność typowych rozdziałów jak: streszczenia w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo, przydatny dla czytelnika wykaz skrótów użytych w tekście oraz opisane i umieszczone w pracy załączniki w postaci kopii wykorzystanych publikacji.

67 aktualnych pozycji piśmiennictwa światowego świadczą o tym, że Autorka dogłębnie poznała i nauczyła się najnowszych danych naukowych w specjalistycznych czasopismach.

W pracy doktorskiej opartej o cykl publikacji należy podkreślić, że publikacje składające się na cykl zostały uprzednio zrecenzowane w specjalistycznych czasopismach laryngologicznych także o profilu audiologicznym, w tym, w czasopismach z współczynnikiem wpływu IF.

Praca powstała w wiodącym ośrodku onkologicznym specjalizującym się w nowotworach głowy i szyi co jest gwarantem jej wysokiej wartości.

Nie mam innych uwag krytycznych.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi praktyczny wkład w wiedzę o procesie metylacji RNA, ze szczególnym uwzględnieniem roli enzymu METTL3 w patogenezie i odpowiedzi na leczenie raka płaskonabłonkowego głowy i szyi. Trzy powiązane ze sobą publikacje prezentują spójną i logicznie zaplanowaną sekwencję badań – od przeglądu literatury i identyfikacji problemu, przez badania ilościowe w materiale klinicznym i liniach komórkowych, aż po eksperymenty funkcjonalne z wykorzystaniem technologii CRISPR-Cas9. Wyniki rozprawy poszerzają wiedzę o potencjalnych biomarkerach prognostycznych oraz mechanizmach oporności na cisplatynę, wskazując na znaczenie epigenetycznych modyfikacji RNA w rozwoju i terapii HNSCC.

Życzę Doktorantce aby kontynuowała swoje prace badawcze gdyż badania te mają dużą wartość praktyczną.

Z przyjemnością zwracam się z wnioskiem do Przewodniczącego Rady Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu Prof. dr hab. Przemysław Mitkowskiego o dopuszczenie Pani mgr Kamili Ostrowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie wnioskuję o przyznanie wyróżnienia recenzowanej pracy doktorskiej. Uzasadniam to istotną naukową wartością pracy oraz wysokim współczynnikiem wpływu wydanych publikacji.

Wrocław, dn. 01 kwietnia 2025

Prof. dr hab. n. med. Tomasz Zatoński