

Akceptuję
T. J.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Kacpra Guglasa

pt.: „Biologiczna rola YRNA w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi”,
w związku z powierzeniem obowiązków recenzenta przez Radę Naukową Dyscypliny Nauk
Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Praca doktorska została przygotowana w Pracowni Genetyki Nowotworów, Wielkopolskiego Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Poznaniu pod kierunkiem promotora dr hab. n. biol. Katarzyny Lamperskiej. Promotorem pomocniczym był dr n. med. Tomasz Kolenda. Doktorant na realizację rozprawy uzyskał stypendium współfinansowane przez Europejski Fundusz Społeczny w ramach programu PO WER (Program Operacyjny Wiedza, Edukacja, Rozwój) w ramach projektu „Program Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich wykorzystujących sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) w medycynie spersonalizowanej”. Badania sfinansowano w ramach grantu wewnętrznego Wielkopolskiego Centrum Onkologii „Biologiczna rola YRNA w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi” (WCO 6/04/2021/PGN/WCO/002). Tematyka rozprawy doktorskiej wpisuje się w zagadnienia realizowane przez panią Promotor, której rozwój naukowy mam przyjemność śledzić przez wiele lat. Rozprawę mgr Kacpra Guglasa stanowi cykl obejmujący trzy publikacje przedstawiony w formie zalecanej dla prac promocyjnych i obejmuje 128 stron.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy:

- 1) Guglas K, Kolenda T, Stasiak M, Kopczyńska M, Teresiak A, Ibbs M, Bliźniak R, Lamperska K. *YRNAs: New Insights and Potential Novel Approach in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*. *Cells*. 2020; 9(5): 1281. doi: 10.3390/cells9051281. 140 punktów ministerialnych, if 6,600. Liczba cytowań 9.
- 2) Guglas K, Kołodziejczak I, Kolenda T, Kopczyńska M, Teresiak A, Sobocińska J, Bliźniak R, Lamperska K. *YRNAs and YRNA-derived fragments as new players in cancer research and their potential role in diagnostics*. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(16): 5682. doi: 10.3390/ijms21165682. 140 punktów ministerialnych, if 5,924. Liczba cytowań 14.
- 3) Guglas K, Kolenda T, Kozłowska-Masłoń J, Severino P, Teresiak A, Bliźniak R, Lamperska K. *The impact of YRNAs on HNSCC and HPV infection*. *Biomedicines*. 2023; 11(3): 681. doi: 10.3390/biomedicines11030681. 100 punktów ministerialnych, if 4,757. Liczba cytowań 0.

Pan mgr Kacper Guglas jest pierwszym autorem wszystkich prac, łączny if wynosi 17,281, a liczba punktów ministerialnych 380, co uważam za bardzo duże osiągnięcie.

Recenzent uznaje niniejszą rozprawę jako bardzo dobrą, wynikającą z problematyki realizowanej przez Autora w zespole, który od wielu lat zajmuje się badaniem procesów nowotworzenia. Z tematyką przedstawianą przez Doktoranta jestem zaznajomiony, ponieważ miałem możliwość recenzowania dorobku naukowego dr hab. Katarzyny Lamperskiej, jak i promotora pomocniczego dr Tomasza Kolendy. Niniejsza rozprawa stanowi kontynuację badań związanych z płaskonabłonkowymi nowotworami głowy i szyi.

W pierwszym artykule poświęconym możliwości wykorzystania badań niekodujących RNA – YRNA wchodzących w skład rybonukleoproteiny Ro60 i niezbędnych do inicjacji replikacji DNA w odniesieniu do raka płaskonabłonkowego głowy i szyi (HNSCC). Doktorant określał poziom ekspresji YRNA w liniach komórkowych HNSCC, 20 dopasowanych tkankach nowotworowych i 70 tkankach utrwalonych w parafinie (FFPET) od pacjentów z HNSCC. Korzystając z danych The Cancer Genome Atlas (TCGA) oraz analizy wzbogacania zestawu genów (ang. *Gene Set Enrichment Analysis*, GSEA), wykazał że, poziomy ekspresji YRNA1 i YRNA5 są znacząco obniżone w liniach komórkowych HNSCC. YRNA1 wykazał najwyższą czułość, pozwalając odróżnić tkankę zdrową od nowotworowej. Analiza danych TCGA wykazała, że ekspresja YRNA1 była znacząco zmieniona w zależności od statusu zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV). Pacjenci ze średnią lub wysoką ekspresją YRNA1 wykazywali lepsze wyniki w zakresie przeżycia. Wykazano, że geny skorelowane z YRNA1 były związane z różnymi procesami zachodzącymi podczas kancerogenezy. Analiza GSEA wykazała wysokie wzbogacenie ekspresji w ośmiu procesach istotnych dla rozwoju raka. Doktorant wykazał, że YRNA1 wpływa na przeżycie pacjentów i może być stosowany jako potencjalny biomarker HNSCC, jednak wymaga weryfikacji w układach *in vitro*. Praca była już recenzowana przez wydawnictwo i w mojej ocenie uważam ją za bardzo wartościową (Cells. 2020, 140 punktów ministerialnych, if 6,600).

Drugi artykuł stanowi pracę przeglądową dotyczącą znaczenia YRNA i fragmentów YRNA w badaniach nad nowotworami i ich potencjalnym znaczeniu w diagnostyce. Doktorant charakteryzuje strukturę czterech YRNA - YRNA1, YRNA3, YRNA4 i YRNA5 (ok. 100 nt) oraz ich funkcję. Przechodzi następnie do małych YRNA (YsRNA, ok. 24-31 nt) powstających w czasie degradacji YRNA podczas apoptozy. Wskazuje następnie na powstawanie nawet do 1000 pseudogenów. YRNA i małe RNA pochodzące z YRNA mogą regulować proces nowotworzenia ze względu na ich zmienioną ekspresję w nowotworach oraz wpływ na podziały komórek i stan zapalny. Artykuł można zatem uznać za zapoznanie czytelnika ze znaczeniem YRNA, odpowiadając typowemu Wstępowi. Może warto byłoby ten artykuł przedstawić na

pierwszej pozycji. Druga praca została również dobrze opublikowana (Int J Mol Sci. 2020, 140 punktów ministerialnych, if 5,924).

Trzeci artykuł wiąże YRNA z płaskonabłonkowym rakiem głowy i szyi oraz zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV). Przyjmuje się, że zakażenie HPV jest jednym z najważniejszych czynników ryzyka HNSCC u młodszych pacjentów. Doktorant badał ekspresję genów z tkanek nowotworowych z potwierdzonym zakażeniem HPV i wolnych od wirusa. Ponadto wykorzystał w badaniach nadekspresję YRNA1. Wykazał, że poziomy ekspresji YRNA różniły się w zależności od stadium patologicznego i klinicznego raka i korelowały z bardziej agresywnymi podtypami. YRNA były głównie związane z bardziej zaawansowanymi stadiami raka w grupie HPV(+), a poziomy ekspresji YRNA3 i YRNA1 były skorelowane z bardziej zaawansowanymi stadiami klinicznymi pomimo statusu zakażenia HPV, co wskazuje, że mogą one funkcjonować jako potencjalne biomarkery bardziej zaawansowanych stadiów choroby. YRNA5 był związany z mniej zaawansowanymi stadiami raka w grupie HPV(-). Analizy przeżycia całkowitego i przeżycia wolnego od progresji wykazały przeciwne wyniki między grupami HPV. Ekspresja YRNA, zwłaszcza YRNA1, korelowała z ogromną liczbą białek i procesów komórkowych związanych z infekcjami wirusowymi i odpowiedziami immunologicznymi na wirusy. Linie komórkowe pochodzące z HNSCC z nadekspresją YRNA1 zostały wykorzystane do określenia korelacji YRNA1 i ekspresji genów związanych z infekcjami HPV. Doktorant podkreślił, że wyniki podkreślają znaczenie YRNA jako potencjalnych biomarkerów HNSCC i nowych celów molekularnych. Jest to najnowsza praca, która ukazała się na początku 2023 r. (Biomedicines. 2023, 100 punktów ministerialnych, if 4,757).

Rozprawa doktorska zawiera główne elementy wchodzące w skład typowej pracy promocyjnej i obejmuje: wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską w kolejności publikacyjnej, spis treści, wykaz stosowanych skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, założenia i cel pracy, piśmiennictwo, trzy publikacje stanowiące rozprawę, podsumowanie i wnioski, opinię Komisji Bioetycznej oraz oświadczenia współautorów publikacji. Jest to układ wystarczający do przygotowania recenzji rozprawy, chociaż może warto by pokusić się o krótką dyskusję nad wszystkimi artykułami, chociaż trzeba pamiętać, że artykuły zawierają już dyskusję.

Założenia i cel pracy związane są z określeniem biologicznej funkcji YRNA w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi. Doktorant wskazał również 18 celów szczegółowych, począwszy od określenia poziomu ekspresji, poprzez korelację, wskazanie znaczenia YRNA jako biomarkera, aż do nadekspresji YRNA1. Cele uważam za bardzo

ambitne i bardzo zwięzłe. Autor we wszystkich częściach rozprawy wspiera się ściśle danymi zawartymi w publikacjach będących podstawą rozprawy.

Mgr Kacper Guglas przedstawił na 6 stronach Podsumowanie i wnioski, odnosząc się do celu głównego, wskazując biologicznie istotne zmiany ekspresji YRNA w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi oraz wskazując potencjał YRNA jako biomarkera. Następnie odnosi się do celów szczegółowych. Jest to rozdział bardzo obszerny, Doktorant odnosi się kolejno do poszczególnych publikacji, poprzedzając wnioski informacją o założonym celu, co znacznie zwiększyło objętość tekstu. Recenzent zastanawia się czy nie byłoby warto postarać się o lepsze wyodrębnienie wniosków, co zwiększyłoby czytelność. Wnioski w pełni odpowiadają założeniom rozprawy.

Recenzentowi zabrakło części poświęconej dyskusji, szczególnie w odniesieniu do łącznej analizy publikacji. To niedopatrzenie może być związane z ujęciem dyskusji w ramach opublikowanych artykułów, tym nie mniej, z pewnością wzbogaciłaby prezentowaną do oceny rozprawę. Bardzo drobnych błędów edytorskich nie wymieniam, ponieważ jest ich niewiele i nie wpływają na wartość rozprawy, wspominam o nich jedynie z obowiązku recenzenta.

Wniosek końcowy. Zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne mgr. Kacprowi Guglasowi. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668).

Ze względu na opracowanie bardzo szerokiej problematyki związanej z określeniem znaczenia niekodujących RNA typu YRNA w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi, wraz z oceną wykorzystania ich jako biomarkera oraz szeroką weryfikacją danych, zgłaszam wniosek o wyróżnienie rozprawy. Rozprawa powstała w oparciu o trzy publikacje, w których Kacper Guglas jest pierwszym autorem, na uwagę zasługuje ponadto cytowanie prac, w tym także pracy przeglądowej. 1) Guglas K, Kolenda T, Stasiak M, Kopczyńska M, Teresiak A, Ibbs M, Bliźniak R, Lamperska K. *YRNAs: New Insights and Potential Novel Approach in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*. *Cells*. 2020; 9(5): 1281. doi: 10.3390/cells9051281. 140 punktów ministerialnych, if 6,600. Liczba cytowań 9; 2) Guglas K, Kołodziejczak I, Kolenda T, Kopczyńska M, Teresiak A, Sobocińska J, Bliźniak R, Lamperska K. *YRNAs and YRNA-derived fragments as new players in cancer research and their potential role in diagnostics*. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(16): 5682. doi: 10.3390/ijms21165682. 140 punktów ministerialnych, if 5,924. Liczba cytowań 1; 3) Guglas K, Kolenda T, Kozłowska-Masłoń J, Severino P, Teresiak A, Bliźniak R, Lamperska K. *The impact of YRNAs on HNSCC and HPV infection*.

Biomedicines. 2023; 11(3): 681. doi: 10.3390/biomedicines11030681. 100 punktów ministerialnych, if 4,757. Liczba cytowań 0.

Łączny if publikacji stanowiących rozprawę doktorską wynosi 17,281, a liczba punktów ministerialnych 380, co uważam za duże osiągnięcie uzasadniające wniosek o wyróżnienie rozprawy.



Prof. dr hab. n. med. Ryszard Słomski

Poznań, 5.09.2023 r.