

Poznań 19.06.2025



Strzeszyńska 32
60-479 Poznań, Poland

tel. +48/61/657 91 00
fax +48/61/823 32 35
e-mail: igcz@man.poznan.pl

www.igcz.poznan.pl

Prof. IGC dr hab. Tomasz Kolanowski
Kierownik SGB Zaawansowanych Modeli Tkankowych
Zakład Patologii Molekularnej, IGC PAN
e-mail: tomasz.kolanowski@igcz.poznan.pl

***Rada Naukowa Dyscypliny Nauki Biologiczne
Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu***

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agaty Henschke

Przedstawiona mi do oceny rozprawa Pani Mgr Agaty Henschke zatytułowana „Wpływ liposomów załadowanych fisetyną na komórki senescentne indukowane terapią” (ang. „The influence of fisetin-loaded liposomes on therapy-induced senescent cells”) Została napisana pod kierunkiem Prof. UAM dr hab. Luis Emerson Coy Romero oraz dr Sergio Moya w Centrum NanoBioMedycznym i finansowana w ramach grantu pt.: „Badania losu zaawansowanych nośników polimerowych *in vitro* i formowania się korony białkowej na ich powierzchni” UMO-2019/33/B/ST5/01495.

Praca koncentruje się na zjawisku starzenia komórkowego (senescencji) jako odpowiedzi komórek na stres, w szczególności wywołany działaniem chemioterapeutyków, oraz na możliwościach terapeutycznego modulowania tego procesu w kontekście leczenia nowotworów. Autorka dokonuje analizy znaczenia starzenia komórkowego w terapii przeciwnowotworowej, zwracając uwagę na ryzyko nawrotu choroby wynikające z potencjalnego odwrócenia tego stanu przez komórki nowotworowe. Zadaniem senolityków jest selektywne indukowanie apoptozy komórek senescentnych, a tym samym eliminacja populacji komórek potencjalnie niekorzystnych z perspektywy skuteczności terapii nowotworowej.

Fisetyna jest naturalnym flawonoidem z grupy polifenoli, obecnym m.in. w owocach. Powszechnie znajduje zastosowanie w badaniach nad terapiami przeciwnowotworowymi. Wykazuje potwierdzone działanie przeciwutleniające i przeciwzapalne, m.in. poprzez hamowanie wydzielania cytokin prozapalnych takich jak IL-6 i IL-8, o czym mowa w niniejszej dysertacji. Ponadto fisetyna charakteryzuje się właściwościami przeciwnowotworowymi, m.in. przez indukcję apoptozy komórek nowotworowych (poprzez aktywację kaspaz) oraz regulację cyklu komórkowego, wpływając na istotne szlaki sygnałowe (np. PI3K/Akt, mTOR). Dodatkowo, niektóre badania wskazują na potencjalne działanie senolityczne fisetyny – tj. jej zdolność do selektywnej eliminacji komórek starzejących się – choć efekt ten nie został potwierdzony w omawianej pracy. Z kolei działanie senomorficzne, polegające na modulacji fenotypu komórek senescentnych, zostało wykazane przez Autorkę w ramach prezentowanych badań.

Przedstawiony manuskrypt spełnia formalne wymagania stawiane rozprawom doktorskim – obejmuje 127 stron maszynopisu i zawiera standardowe elementy pracy naukowej, w tym: listę skrótów, spis treści, streszczenia w językach polskim i angielskim oraz rozdziały: 1. Wstęp (Introduction), 2. Cele (Objectives), 3. Materiały i metody (Materials and Methods), 4. Rezultaty i dyskusja (Results and Discussion) oraz 5. Wnioski (Conclusions). Całość uzupełnia bibliografia obejmująca 151 pozycji, spis 26 figur, 16 tabel oraz 3 równań.

Jak w przypadku wielu rozpraw tego typu, Autorka nie uniknęła drobnych błędów edytorskich, które jako recenzent jestem zobowiązany wskazać: błąd w streszczeniu na stronie 13 w słowie „przyszły”; literówka na stronie 95 („Microscopy”); błąd na stronie 97 w skrócie „eg.”; oraz niekompletne informacje w cytowaniach nr 16, 20, 29 i 57. Pragnę jednak podkreślić, że są to uchybienia typowe dla tak złożonych prac i nie wpływają one istotnie na wartość merytoryczną manuskryptu oraz ogólny odbiór pracy.

We Wstępie, obejmującym 22 strony, Autorka kompetentnie przedstawia aktualny stan wiedzy w zakresie tematyki rozprawy, cytując odpowiednie pozycje literaturowe. Rozdział podzielony jest na logiczne podrozdziały, co ułatwia poruszanie się po omawianej treści. Doktorantka przedstawia zagadnienia związane z indukcją starzenia, charakterystyką komórek senescentnych, rolą procesu starzenia w chorobach nowotworowych oraz omawia podstawy i założenia senoterapii. Cennym uzupełnieniem są również informacje dotyczące technologii wytwarzania nanocząstek lipidowych. Zdaniem recenzenta, wskazane byłoby jednak szersze omówienie wybranego celu terapeutycznego (rak płaskonabłonkowy płuc), jego znaczenia epidemiologicznego oraz potencjalnych zastosowań klinicznych, co pozwoliłoby lepiej osadzić wyniki badań w kontekście dostępnych opcji terapeutycznych. W niektórych miejscach przydałaby się również pogłębiona analiza np. markerów senescencji w kontekście odpowiedzi immunologicznej oraz porównanie z aktualnymi strategiami terapii przeciwnowotworowych w obszarze ATMP (zaawansowane terapie komórkowe i genowe).

Rozdział 2. Cele (Objectives), mimo swojej zwięzłości, nie zawiera wyraźnie i jednoznacznie sformułowanego celu głównego. Główna oś badawcza pracy dotyczy oceny skuteczności dostarczania fisetyny w formie enkapsulowanej w nanocząsteczkach do komórek senescentnych oraz oceny efektywności tych nośników w kontekście ich potencjalnego zastosowania terapeutycznego u pacjentów z chorobą nowotworową. Cele szczegółowe („specific objectives”), choć opisują przebieg badań (indukcja starzenia, opracowanie liposomów, analiza ich dostarczania),

przyjmują raczej formę sprawozdawczą niż hipotezy badawczej. Rozdział ten zyskałby na klarowności, gdyby zawarto w nim jednoznaczne sformułowanie celu głównego i bardziej syntetyczne przedstawienie celów szczegółowych.

Rozdział 3. Materiały i metody (Materials and Methods) został przygotowany poprawnie – zawiera listę odczynników i szczegółowe opisy metod. Zauważalny jest jednak brak dedykowanego opisu analiz statystycznych, co stanowi uchybienie. Ponadto, każda figura zawarta w pracy powinna zostać opatrzona informacją o zastosowanej analizie statystycznej. W pracy skupiono się na dwóch liniach komórkowych: A549 (nowotworowa) oraz WI38 (fibroblasty płucne o prawidłowym fenotypie). Nie jest jednak jednoznacznie określone, czy linia WI38 pełni rolę kontroli fizjologicznej, czy także stanowi model terapeutyczny – co szczególnie istotne w kontekście potencjalnego zastosowania terapii np. w idiopatycznym włóknieniu płuc.

Rozdział 4. Rezultaty i Dyskusja (Results and Discussion) obejmuje zarówno dane eksperymentalne, jak i ich omówienie w postaci dojrzałej dyskusji naukowej z dostępnymi danymi literaturowymi, co jest podejściem stosowanym, lecz wymagającym szczególnej dbałości o przejrzystość. Uzyskane wyniki są interesujące i sugerują potrzebę pogłębienia badań, np. poprzez zastosowanie analiz ekspresji genów, białek lub profilu wydzielniczego SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype), co pozwoliłoby na pełniejszą ocenę działania senomorficznego fisetyny. Chociaż połączenie prezentacji wyników z ich dyskusją niesie pewne ryzyko zaburzenia klarowności przekazu, Autorka poradziła sobie z tym zadaniem, choć miejscami pojawiają się fragmenty metodologiczne, które mogłyby znaleźć się we wcześniejszym rozdziale.

Rozdział 5. Wnioski (Conclusions) stanowią zwięzłe podsumowanie pracy. Doktorantka konkluduje, że (1) indukcja starzenia komórkowego za pomocą doksorubicyny zakończyła się powodzeniem, (2) opracowano liposomy z fisetyną o oczekiwanych parametrach oraz (3) przeprowadzono analizę działania senoterapeutycznego fisetyny, która nie wykazała działania senolitycznego, ale wykazała aktywność senomorficzną (w stężeniach 1,25–160 μM), przy czym efekt ten był bardziej wyraźny w formie liposomalnej. W wyższych stężeniach (80–160 μM) fisetyna w formie wolnej wykazywała porównywalną lub wyższą aktywność.

Bibliografia została sporządzona poprawnie, choć nie uniknięto drobnych błędów formalnych (wskazanych wcześniej). Sześć cytowanych pozycji zawiera opublikowane erraty, co nie zostało uwzględnione przez Autorkę. Piśmiennictwo obejmuje literaturę o wysokim współczynniku cytowań, w tym publikacje w Cell (4) i Nature Communications (5), co świadczy o kompetencji Autorki w zakresie pracy z wysokiej jakości źródłami naukowymi.

Spisy figur, tabel i równań zostały prawidłowo umieszczone na końcu pracy. Warto byłoby nieco rozbudować opisy figur, aby zwiększyć ich czytelność i lepiej zintegrować z treścią manuskryptu. Pomimo tego, ilustracje są odpowiednio dobrane i odpowiadają omawianej treści.

Ogólna ocena pracy jest pozytywna. Choć fisetyna jest już znanym senoterapeutykiem (por. *Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan* Yousefzadeh MJ et al., *EBioMedicine*, 2018), jej zastosowanie w terapii nowotworowej wymaga dalszych badań. Z tego względu przedstawione badania dostarczają wartościowych i oryginalnych danych. Autorka wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych, w tym projektowania nanonośników i ich

charakterystyki. Niemniej jednak, pogłębienie analizy biologicznej oraz zastosowanie nowoczesnych technik ewaluacji efektów terapeutycznych znacząco wzmocniłyby wartość pracy. Opracowanie statystyczne również wymaga uwagi. W ocenie recenzenta są to obszary, które Doktorantka planuje rozwinąć w dalszych etapach badań, również z myślą o publikacji wyników w czasopiśmie międzynarodowym.

Z perspektywy dorobku naukowego warto zauważyć, że Doktorantka współautorsko uczestniczyła w przygotowaniu trzech publikacji, które jednak nie zostały włączone do rozprawy. Brakuje również publikacji pierwszoautorskiej obecnej w bazie PubMed (stan na 17.06.2025), co stanowi istotny element dalszego rozwoju naukowego i publikacyjnego. Zachęcam serdecznie do uzupełnienia tego aspektu.

W świetle przedstawionego manuskryptu chętnie zapoznałbym się z planami Doktorantki dotyczącymi potencjalnych kierunków rozszerzenia badań, wyboru technik eksperymentalnych w dalszym toku projektu oraz planów publikacyjnych. Mając na uwadze obecnie zoptymalizowaną, choć niższą niż publikowana, skuteczność internalizacji nanocząstek z fisetyną do komórek, chętnie usłyszałbym również opinię Doktorantki w kontekście doboru strategii modyfikacji nanocząstek, aby poprawić wydajność tego procesu dla opracowywanego kompleksu.

Podsumowanie:

Rozprawa łączy aspekty biologii komórki, farmakologii i inżynierii materiałowej w celu zbadania strategii ukierunkowanych na komórki starzejące się w przebiegu terapii nowotworowej. Praca wnosi istotny wkład w rozwój nowoczesnych podejść terapeutycznych, uwzględniając zarówno możliwości senoterapii, jak i nanotechnologii w formie liposomalnych systemów dostarczania leków.

Stwierdzam, że przedstawiona przez Panią mgr Agatę Henschke rozprawa doktorska pt.: „Wpływ liposomów załadowanych fisetyną na komórki senescentne indukowane terapią” spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 ze zm.) oraz Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. W związku z powyższym, wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Agaty Henschke do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku,

Dr hab. n. med. i n. o zdr. Tomasz Kolanowski