



Kielce 02.11.2022 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Mateusza Cieśluka

pt. „**Charakterystyka właściwości mechanicznych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego**”

Promotor: Prof. dr hab. Robert Bucki

Promotor pomocniczy: dr hab. Katarzyna Pogoda

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej i Inżynierii Nanobiomedycznej

Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku



RPW/22238/2022  
Data: 2022-11-07  
UMB

Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi spójny tematycznie cykl trzech publikacji. Temat pracy doktorskiej jest bardzo interesujący i włącza się w nurt badań nad właściwościami mechanicznymi chorobowo zmienionych tkanek których poznanie pozwoli na wzbogacenie narzędzi diagnostycznych czy rozwój nowych form terapii. Ilościowa charakterystyka właściwości mechanicznych tkanek, a także analiza ich potencjalnych zmian w korelacji z postępem choroby stwarza możliwość dokładniejszego opisanie klinicznie istotnych nieprawidłowości w tkankach. W trakcie rozwoju wielu chorób w tym nowotworowych dochodzi do zmian właściwości mechanicznych tkanek, np. sztywności będących konsekwencją zmian histopatologicznych, takich jak gromadzenie kolagenu, wiązanie wody czy zmian unaczynienia macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki. Co istotne, we wczesnych stadiach rozwoju choroby, w tym rozwoju nowotworu, zmiany sztywności komórek czy tkanek mogą poprzedzać wykrywalne zmiany



histologiczne, a więc zmiany mechaniki tkanek mogą służyć jako nowe markery diagnostyczne. Pomiar sztywności guzów piersi czy tarczycy znajduje już zastosowanie jako jeden z elementów diagnostyki onkologicznej. Pomiar elastyczności wątroby wykorzystuje się do oceny stopnia jej zwłóknienia w przebiegu przewlekłego zapalenia czy marskości. Właściwości nanomechaniczne tkanki, a także środowiska zewnątrzkomórkowego istotnie wpływają również na potencjał przerzutowy nowotworów piersi, trzustki, wątroby, jelita grubego. Istotnie, zwiększone naprężenia ściskające mogą zmniejszać przepływ krwi w tkankach poprzez uciskanie naczyń krwionośnych, a tym samym wpływać na progresję guza i zmniejszać skuteczność chemio- i nanoterapii. Zatem analiza parametrów mechanicznych tkanek powinna stanowić stały element badań nad patofizjologią chorób oraz rozwojem nowych leków skierowanych przeciwko nim. I właśnie w ten szalenie ważny kierunek badań włącza się doktorant prowadząc badania nad właściwościami mechanicznymi nowotworów ośrodkowego układu nerwowego.

Rozprawa doktorska liczy 104 strony i obejmuje: wykaz publikacji, wyjaśnienia stosowanych skrótów, wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, kopie trzech publikacji wchodzących w skład rozprawy, streszczenie pracy w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo oraz oświadczenia współautorów o charakterze udziału w publikacjach i szacunkowym określeniem ich procentowego wkładu.

Pragnę podkreślić spójność tytułu pracy doktorskiej z tematyką analizowanych publikacji. W pierwszej pracy, przeglądowej, autor przedstawił aktualny stan wiedzy na temat właściwości mechanicznych tkanek ośrodkowego układu nerwowego. Wskazał, że sztywność tkanek istotnie się zmienia w przebiegu chorób zwłaszcza nowotworowych a jej pomiar może dostarczać informacji nie tylko o diagnozie choroby ale także o jej ciężkości oraz pozwala na przewidywanie





odpowiedzi na leczenie. Praca oparta jest o wyczerpujący i właściwie dobrany przegląd najnowszych publikacji badające powyższe zagadnienie.

Dwie prace oryginalne wchodzące w skład cyklu stanowią część badawczą projektu. Celem prac było określenie właściwości mechanicznych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego o różnym pochodzeniu oraz różnym stopniu złośliwości, a także ocena możliwości wykorzystania mikroskopii sił atomowych jako komplementarnej do oceny histopatologicznej w procesie diagnostyki nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. Dodatkowo z wykorzystaniem modelu komórkowego glejaka autor ocenił wpływ parametrów sztywności i lepkości środowiska zewnątrzkomórkowego na efektywność przeciwnowotworową temozolomidu.

Badania właściwości mechanicznych nowotworów zostały wykonane na próbkach świeżo pobranych tkanek nowotworów ośrodkowego układu nerwowego i tkanek zdrowych, które zostały usunięte podczas zabiegów neurochirurgicznych u pacjentów ze schorzeniami nowotworowymi ośrodkowego układu nerwowego. Analiza mechaniczna tkanek została przeprowadzona z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych, Mikroskopia sił atomowych jest narzędziem pozwalającym na uzyskanie rozdzielczości w nanoskali i na poziomie pojedynczych komórek. Może być ona stosowana także w badaniach tkanek guza mózgu. Należy nadmienić, że do tej pory wykorzystywano do badań głównie zamrożone lub utrwalone próbki ludzkiego mózgu. Biorąc pod uwagę, że własności mechaniczne mogą ulec zmianie w wyniku obróbki preparatów przed pomiarami istotnym jest, aby używać świeżo pobranej tkanki a badanie prowadzić w warunkach zbliżonych do warunków fizjologicznych i tak właśnie badanie zostało przeprowadzone przez doktoranta co znacząco podnosi wartość wykonanych badań. Badania oceniające wrażliwość komórek hodowanych na matrycach



lepkością na dodany cytostatyk przeprowadzono w modelu glejaka *in vitro* z wykorzystaniem mikroskopii optycznej oraz cytometrii przepływowej.

W toku badań zaobserwowano istotne statystycznie zmiany w sztywności tkanek nowotworowych w porównaniu do istoty białej oraz szarej. Co ważne, sztywność badanych tkanek wzrastała wraz z określonym histopatologicznie stopniem złośliwości nowotworu. Wykazano ponadto, iż usztywnienie kompresyjne charakteryzuje wszystkie badane nowotwory pierwotne ośrodkowego układu nerwowego. Uzyskane wyniki wskazują także na możliwość wykorzystania mikroskopii sił atomowych jako metody komplementarnej do oceny histopatologicznej tkanek. W doświadczeniach z wykorzystaniem linii komórkowych potwierdzono, iż zwiększona lepkość środowiska zewnątrzkomórkowego znacząco obniża wrażliwość komórek linii glejaka LN-18 oraz LN-229 na obecność temozolomidu.

Należy podkreślić, że prace badawcze wykonano z wykorzystaniem nowoczesnych, nietrywialnych narzędzi diagnostycznych jak mikroskopia sił atomowych czy cytometria przepływowa. Opis stosowanych technik jest wyczerpujący i szczegółowy, podobnie jak uzyskanych wyników oraz dyskusji, co wskazuje na świetną orientację doktoranta w badanym zagadnieniu. Użycie odpowiednich metod i algorytmów postępowania, właściwa analiza bioinformatyczna zapewniają rzetelną i obiektywną ocenę wyników przeprowadzonych badań oraz wyciągnięcie poprawnych wniosków. Doktorant równie swobodnie porusza się w obszarze zagadnień klinicznych jak i biofizycznych.

Obie prace poza częścią badawczą w dyskusji zawierają obszerną analizę dostępnej literatury światowej dotyczącej przedstawianych zagadnień. Są napisane klarownym, naukowym językiem. Doktorant wykazała się w nich umiejętnością kompleksowej analizy danych piśmiennictwa i trafnością spostrzeżeń. Umiejętne





wykorzystanie piśmiennictwa i krytyczna ocena wyników innych autorów jak i własnych, wskazuje na dużą dojrzałość naukową i świetne teoretyczne przygotowaniu doktoranta.

Łączny wskaźnik IF publikacji wchodzących w skład niniejszej rozprawy wynosi 16,366 i 380,000 punktów MEiN. Tak wysoki sumaryczny IF wskazuje, że badania zostały właściwie zaplanowane i przeprowadzone oraz reprezentują wysoki poziom naukowy, co zostało pozytywnie ocenione przez recenzentów czasopism publikujących powyższe prace. Wszystkie te prace są opracowaniami zbiorowymi, w których Doktorant jest pierwszym autorem. Doktorant odegrała wiodącą rolę w zaplanowaniu pracy doświadczalnej będącej przedmiotem publikacji, w wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i analizie wyników uzyskanych w badaniach oraz przygotowaniu manuskryptów do publikacji.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Mateusza Cieśluka charakteryzuje się trafnością wyboru tematu oraz narzędzi badawczych. W analizowanym cyklu publikacji Doktorant wykazał się umiejętnością sformułowania celów badawczych, zaplanowania i przeprowadzenia badań naukowych oraz trafnego wnioskowania a także prowadzenia dyskusji własnych wyników z osiągnięciami innych naukowców. Autor w pełni zrealizował zaplanowany cel, dobrze opanowała niełatwy warsztat badawczy i wykazał doskonałe przygotowanie merytoryczne. Zawarty w rozprawie cykl publikacji jest spójny tematycznie i przyczynia się do lepszego poznania omawianej tematyki, toteż jest cennym uzupełnieniem dostępnego piśmiennictwa naukowego. Rozprawa ma dużą wartość poznawczą i stanowi podstawę do kontynuowania badań naukowych w tej dziedzinie. Nie wnoszę uwag krytycznych co do zasadności podejmowanych badań, toku ich przeprowadzenia, doboru metod badawczych, wyników oraz ich opracowania, interpretacji i dyskusji oraz wniosków końcowych.



Stwierdzam, że przedłożona do recenzji praca autorstwa mgr inż. Mateusza Cieśluka spełnia wszystkie ustawowe wymogi i kryteria, jakim powinna odpowiadać praca na stopień doktora nauk medycznych. Tym samym zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr inż. Mateusza Cieśluka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie zgłaszam wniosek o wyróżnienie pracy ze względu na nowatorski charakter tematyki przeprowadzonych badań, znakomity plan doświadczeń, przejrzystość analizy uzyskanych wyników i wysoką sumaryczną wartość IF cyklu publikacji stanowiących niniejszą rozprawę.

dr hab. med. Aldona Kowalska prof. UJK

**Dr hab. n. med. Aldona Kowalska**  
*specjalista chorób wewnętrznych*  
*medycyny nuklearnej, endokrynolog*  
**8773721      tel. 693 121 502**