

Kraków, 02 stycznia 2024 r.

Prof. dr hab. n. med. Maciej Siedlar

Zakład Immunologii Klinicznej,

Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii,

Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski,

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. med. Mieszka Krzysztofa Lachoty p.t.: „*Badanie profilu migracji komórek NK i poszukiwanie metody poprawiającej ich infiltrację w terapii nowotworów litych*”, na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.

Ogólnym celem rozprawy doktorskiej: „*Badanie profilu migracji komórek NK i poszukiwanie metody poprawiającej ich infiltrację w terapii nowotworów litych*”, wykonanej m.in. w Zakładzie Immunologii Klinicznej, Laboratorium Terapii Komórkowych i Genetycznych, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (WUM), było w pierwszej kolejności: i) scharakteryzowanie wzorców migracji komórek NK i ii) identyfikacja możliwych strategii poprawiających migrację tychże komórek do tkanki guzów litych. Powyższe rozważania były prowadzone na tle opracowań dotyczących roli komórek NK w rozrostach typu mięsakowego oraz dyskusji zagadnień związanych z wpływem metabolizmu komórek mikrośrodowiska guza nowotworowego na funkcje infiltrujących nowotwór komórek NK. Rozprawa doktorska licząca 157 stron powstała (w swej części eksperymentalnej) w oparciu o oznaczenia prowadzone na ludzkim materiale biologicznym, na co uzyskano właściwą zgodę odpowiedniej komisji bioetycznej (*regional committees for medical and health research ethics in Norway*: 2018/2485). Praca doktorska oparta jest na materiale naukowym zgromadzonym w trzech publikacjach, o łącznej wartości współczynnika oddziaływania (IF, *impact factor*) wynoszącym 24.3, a sumaryczna liczba punktów MEiN wynosi 420:

1. Lachota, M., Vincenti, M., Winiarska, M., Boye, K., Zagożdżon, R., Malmberg, K.-J., 2020. Prospects for NK Cell Therapy of Sarcoma. *Cancers* 12, 3719.

<https://doi.org/10.3390/cancers12123719>; IF = 6.6 (za rok 2020), 140 pkt MEiN; deklarowany

wkład własny – 73 %.

2. Domagala, J., **Lachota, M.**, Kłopotowska, M., Graczyk-Jarzynka, A., Domagala, A., Zhylo, A., Soroczynska, K., Winiarska, M., 2020. The Tumor Microenvironment – A Metabolic Obstacle to NK Cells' Activity. *Cancers* 12, 3542. <https://doi.org/10.3390/cancers12123542>; IF = 6.6 (za rok 2020), 140 pkt MEiN; deklarowany wkład własny – 7,5 %.

3. **Lachota, M.**, Zielniok, K., Palacios, D., Kanaya, M., Peena, L., Hoel, H.J., Wiiger, M.T., Kveberg, L., Hautz, W., Zagożdżon, R., Malmberg, K.-J., 2023. Mapping the chemotactic landscape in NK cells reveals subset-specific synergistic migratory responses to dual chemokine receptor ligation. *eBioMedicine* 96. (grupa *Lancet*) <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104811>; IF = 11.1 (za rok 2023), 140 pkt MEiN; deklarowany wkład własny – 70 %.

Układ rozprawy doktorskiej jest dla tego rodzaju opracowań typowy i przejrzysty. Wszystkie publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej przeszły redakcyjny proces recenzowania przez grupy eksperckie i zostały w jego wyniku przyjęte do druku w wysoko punktowanych, międzynarodowych czasopismach naukowych. Dwie pierwsze prace są publikacjami przeglądowymi, natomiast trzecia z wymienionych powyżej - laboratoryjną pracą eksperymentalną. Wydruki publikacji poprzedzają: streszczenie, wstęp oraz bibliografia, a następują po nich: podsumowanie i wnioski, oświadczenia współautorów oraz analizy bibliometryczne dotyczące dorobku naukowego Doktoranta.

Publikacja „*Prospects for NK Cell Therapy of Sarcoma*” stanowi przegląd literatury dotyczącej funkcjonalnej roli komórek NK w patofizjologii rozrostu mięsaka. Przedstawiono w niej stan wiedzy dotyczącej roli komórek NK w nadzorze immunologicznym mięsaka na etapach fazy inicjacji, progresji i przerzutowania nowotworu. Omówiono także czynniki związane z ucieczką mięsaka spod nadzoru immunologicznego komórek NK. Mając na względzie obecny stan wiedzy, omówiono potencjalne strategie poprawiające skuteczność przeciwnowotworowych aktywności komórek NK.

W kolejnej publikacji cyklu: „*The Tumor Microenvironment - A Metabolic Obstacle to NK Cells*”, szeroko omówiono biologię procesu infiltracji mikrośrodowiska guza nowotworowego przez komórki NK, strategie jego ograniczania wykształcone przez komórki nowotworowe oraz potencjalne strategie terapeutyczne mogące być stosowanymi w celu uczulenia nowotworu na fizjologiczne aktywności tychże komórek NK. Scharakteryzowano czynniki mające wpływ na supresję aktywności komórek NK, zwłaszcza związane z procesami metabolicznymi wykazującymi istotne odrębności w obszarze nacieku nowotworowego. Podjęto także rozważania

dotyczące potencjalnych strategii rozwoju terapii przeciwnowotworowych uwzględniających metody uodparniania komórek NK na immunosupresyjne czynniki spotykane w mikrośrodowisku guza.

Obie wymienione prace w sposób teoretyczny uzasadniają - na bazie dostępnych informacji naukowych - obserwowaną w naturze relatywnie skąpą obecność dojrzałych komórek NK w obrębie łoża nacieku nowotworowego, w odniesieniu do innych komórek immunokompetentnych. Częściowe wyjaśnienie tego faktu podane jest w trzeciej, eksperymentalnej pracy przedstawionej przez Kandydata do oceny: *„Mapping the chemotactic landscape in NK cells reveals subset-specific synergistic migratory responses to dual chemokine receptor ligation”*. Udowodniono w niej, iż profil ekspremowanych receptorów chemokinowych na ludzkich komórkach NK zmienia się w skoordynowany sposób podczas procesu dojrzewania oraz w wyniku stymulacji cytokinami. Wykazano, że ekspresja receptorów chemokinowych jest ściśle skorelowana z odpowiedzią migracyjną poszczególnych subpopulacji komórek NK, a także, iż ligacja receptorów CXCR1/2 i CX3CR1 wykazuje efekt synergistyczny zwiększając ich odpowiedź migracyjną, w porównaniu do stymulacji tylko pojedynczego z wymienionych receptorów. Analiza danych sekwencjonowania RNA 9471 nowotworów litych w bazach danych TCGA i TARGET wykazała również dziewięć dominujących profili chemokinowych, które różniły się pomiędzy poszczególnymi rodzajami nowotworów, ale żaden z nich nie posiadał ligandów dla więcej niż jednego receptora chemokinowego dojrzałych komórek NK. Prezentowane wyniki sugerują, że brak naturalnie występujących par chemokiny-receptory chemokinowe może przynajmniej częściowo wyjaśniać systemowe wykluczenie komórek NK z nacieku leukocytnego spotykanego w obrębie guzów litych.

Oświadczenia Współautorów potwierdzają deklarowany udział Doktoranta w powstaniu przedmiotowych publikacji naukowych. W mojej opinii, wystarczające w zupełności byłoby przedłożenie jedynie dwóch prac z dominującym udziałem Kandydata, oczywiście, jeśli nie określają tego w odrębny sposób szczegółowe instrukcje Rady Dyscypliny Nauk Medycznych WUM.

Prace badawcze finansowane były w sposób zrównoważony z trzech źródeł, w tym – co bardzo istotne – ze środków zdobytych przez samego Kandydata:

1. „Diamantowy Grant” finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr DI2018 020548 pt. *„Badanie profilu migracji komórek NK oraz poszukiwanie metod ekspansji in vitro do terapii adopcyjnych w chorobach nowotworowych”*. Kierownik projektu: lek. med. **Mieszko Lachota (Doktorant)**,
2. Grant młodego badacza finansowany przez Warszawski Uniwersytet Medyczny nr

18/M/MBM/N/1 pt. „Ocena wpływu zaburzeń migracji komórek NK w patogenezie limfhistiocytozy hemofagocytowej”. **Kierownik projektu: lek. med. Mieszko Lachota (Doktorant),**

3. Grant OPUS finansowany przez Narodowe Centrum Nauki nr 2020/37/B/NZ6/02191 pt. „Zwiększanie precyzji immunoterapii przeciwnowotworowej chimerowymi receptorami antygenowymi (CAR) przez zastosowanie ekspresji CAR indukowanej chemokinami”. **Kierownik projektu: dr hab. Radosław Zagożdżon, prof. UW (Promotor pracy doktorskiej).**

Prezentowane eksperymentalne osiągnięcie naukowe jest niezwykle wartościowe, poznawczo znaczące i stanowi istotny, indywidualny przyczynek do wieloaspektowej dyskusji nad - głównie molekularnymi - mechanizmami dotyczącymi znaczenia naturalnie występujących par *chemokiny/receptory chemokinowe*, co w przyszłości może stanowić znaczący wkład w rozwój nowych strategii terapii komórkowych, opartych na wykorzystaniu biologicznej roli komórek NK. Osiągnięcie to posiada więc również duży potencjał translacyjny. Uznanie budzi rzetelne instrumentarium badawcze, ze wsparciem zaawansowanych technologicznie, molekularnych, laboratoryjnych metod analitycznych oraz biostatystycznych, jak również intelektualna konsekwencja w dociekaniach naukowych. Podkreślenia wymaga fakt szerokiej współpracy Kandydata z krajowymi oraz międzynarodowymi grupami badawczymi. W mojej opinii, charakter przedstawionego osiągnięcia naukowego mieści się w zakresie wnioskowanej dyscypliny.

Reasumując, imponujący jest ogrom pracy, jaki Doktorant włożył w swe badania, a także wartość naukowa przedstawionych wyników. Praca bez wątpienia zasługuje na wyróżnienie.

Przedstawiona praca w pełni spełnia zwyczajowe wymagania rozprawy doktorskiej, spełnia również w pełni warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z tym, z przyjemnością, przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. med. Mieszka Krzysztofa Lachoty do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Maciej Siedlar