UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr Joanny Olszańskiej

pod tytułem

„Wzajemne interakcje komórek raka jelita grubego za adipocytami, będącymi elementem niszy nowotworowej"

Wydział Biologii

Instytut Zoologii
i Badań Biomedycznych

Zakład Biochemii
Glikokoniugatów

Informacje wstępne i ocena formalna

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Olszańskiej została wykonana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Doroty Nowak oraz Pani dr Katarzyny Pietraszak-Gremplewicz, pełniącej funkcję promotor pomocniczej, w Zakładzie Patologii Komórki Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Wyniki przedstawione w niniejszej dysertacji były efektem realizacji części projektu OPUS 22 (nr 2021/43/B/NZ3/01458) finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki, którym kierowała Profesor Dorota Nowak.

Rozprawa doktorska została przygotowana w postaci klasycznej monografii naukowej, a jej układ spełnia wymogi formalne stawiane tego typu opracowaniom. Dysertacja została podzielona na typowe rozdziały, to jest *Streszczenia* w języku polskim i angielskim, *Wstęp*, *Cel pracy*, *Materiały i odczynniki*, *Metody*, *Wyniki*, *Dyskusja*, *Wnioski* oraz *Bibliografia*. Ponadto dysertacja zawiera *Spis najważniejszych skrótów* oraz wykaz osiągnięć naukowych Doktorantki. Cała rozprawa doktorska zajmuje 171 stron. Jest ona ilustrowana 47 rycinami oraz posiada 11 tabel. Spis literatury obejmuje 384 pozycji, wyłącznie anglojęzycznych, opublikowanych w latach 1977-2024, z czego ponad połowę stanowią pozycje opublikowane w ciągu ostatnich pięciu lat, a te opublikowane przed 2000 rokiem to zaledwie 2% wszystkich pozycji literaturowych. Pani mgr Joanna Olszańska jest współautorką dwóch artykułów oryginalnych
i dwóch prac przeglądowych opublikowanych w latach 2021-2025 w czasopismach umieszczonych na liście *Journal Citation Reports* oraz indeksowanych w bazie *Web of Science*. Łączny współczynnik oddziaływania (IF) tych czasopism - liczony zgodnie z rokiem publikacji danego artykułu - wynosi 26,11; a łączna suma punktów ministerialnych przypisana tym czasopismom - liczona również zgodnie z rokiem publikacji danego artykułu – wynosi 550. Ponadto w swoim dorobku ma jedno doniesienie konferencyjne. Wyniki badań opisanych w ocenianej dysertacji zostały już częściowo upowszechnione w artykule opublikowanym w *Cell Communication and Signaling* w 2023 roku (punkty MNiSW - 140, IF- 8,2), w którym Doktorantka jest pierwszą autorką.

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: 12 664 64 62
fax: 12 664 51 01
http://www.uj.edu.pl/web/instytut-zoologii/jednostka/struktura/zaklad-biochemii-glikokoniugatow

UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii
i Badań Biomedycznych

Zakład Biochemii
Glikokoniugatów

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: 12 664 64 62
fax: 12 664 51 01
http://www.uj.edu.pl/web/instytut-zoologii/jednostka/struktura/zaklad-biochemii-glikokoniugatow

Ocena merytoryczna

Rozprawę doktorską rozpoczyna dwudziestodziewięcio-stronnicowy rozdział *Wstęp*, który został napisany w oparciu o aż 218 pozycji literaturowych. Na początku Doktorantka opisała w nim raka jelita grubego (CRC) skupiając się na jego genetycznym uwarunkowaniu, wymienieniu czynników ryzyka oraz jego podtypów molekularnych. Za dobry pomysł uważam przedstawienie w formie graficznej trzech mechanizmów prowadzących do niestabilności genetycznej w raku jelita grubego wraz ze wskazaniem kluczowych genów, które ulegają wówczas mutacji (Rycina 1) oraz charakterystycznych cech molekularnych i biologicznych poszczególnych podtypów CRC (Rycina 2). Z uwagi na fakt, że otyłość jest jednym z istotnych czynników ryzyka w raku jelita grubego, Doktorantka przedstawiła również jakiego rodzaju zmiany zachodzą w tkance tłuszczowej na skutek nadmiaru składników odżywczych, to jest hipertrofię i hiperplazję adipocytów, zwłóknienie macierzy pozakomórkowej, zmiany w metabolizmie adipocytów i wydzielaniu przez nie substancji aktywnych biologicznie, zmiany w proporcji poszczególnych rodzajów kwasów tłuszczowych (FA) i poziomie ich syntezy *de novo*, oraz indukcję stanu zapalnego w tkance tłuszczowej. W dalszej części rozdziału *Wstęp* Doktorantka opisała złożoność wzajemnych oddziaływań pomiędzy adipocytami związanymi z nowotworem (CAA) a komórkami nowotworowymi, co graficznie zostało przedstawione na Rycinie 8, a szczegóły dotyczące przeprogramowania metabolizmu glukozy i losów kwasów tłuszczowych w komórkach nowotworowych, odpowiednio na Rycinach 9 i 10. W końcowej części rozdziału *Wstęp* Doktorantka omówiła zalety i wady modeli stosowanych *in vitro* do badania interakcji pomiędzy adipocytami a komórkami nowotworowymi (trójwymiarowe modele – sferoidy, organoidy i druk 3D, kokultury – bezpośrednie i pośrednie) oraz sposoby indukowania adipogenezy w komórkach prekursorowych (mysich fibroblastach linii 3T3-L1 oraz ludzkich komórkach macierzystych izolowanych z tkanki tłuszczowej). Moim zdaniem rozdział *Wstęp* ma dobrze przemyślaną konstrukcję, poszczególne podrozdziały logicznie po sobie następują, opis jest syntetyczny i zwięzły, a całość jest ilustrowana dobrze dobranymi rycinami poglądowymi.

Szeroko zakrojona analiza przedmiotowej literatury pozwoliła Doktorantce na zidentyfikowanie stanu niewiedzy odnośnie molekularnych uwarunkowań oddziaływań zachodzących pomiędzy komórkami raka jelita grubego a mikrośrodowiskiem bogatym w tkankę tłuszczową, oraz mechanizmów łączących CRC z otyłością. Z uwagi na fakt, że rak jelita grubego jest trzecim najczęściej diagnozowanym nowotworem na świecie, a w rankingu przyczyn zgonów pacjentów onkologicznych zajmuje drugie miejsce, ponadto niepokojące prognozy dotyczące dużego wzrostu zachorowań na CRC w okresie nadchodzących 15 lat (wzrost o ponad 60%) oraz bezsprzeczne powiązanie CRC z plagą otyłości, wybór tematyki badań opisanych w niniejszej dysertacji uważam za w pełni uzasadniony. Doktorantka postawiła za cel swoich badań zbadanie cytuję „ ...zbadanie interakcji pomiędzy komórkami

raka jelita grubego i adipocytami, będącymi elementem niszy nowotworowej", co obejmowało analizę wpływu komórek tłuszczowych na proliferację, migrację i metabolizm komórek raka jelita grubego, oraz analizę wpływu komórek raka jelita grubego na biologię adipocytów i ich przekształcenie w kierunku adipocytów związanych z nowotworem. Dodatkowo Doktorantka zamierzała zanalizować czy podczas tuczenia ludzkich adipocytów ulega zmianie poziom ekspresji wybranych genów i białek związanych z transportem i metabolizmem lipidów oraz aktywacja wybranych szlaków sygnałowych. Moim zdaniem lepszym rozwiązaniem byłoby sformułowanie hipotezy badawczej w zamian za dwa cele (główny cel i początkowe zagadnienie), oraz bardziej precyzyjne postawienie celów (to jest celów szczegółowych), których realizacja dałaby możliwość weryfikacji hipotezy w oparciu o wyniki przeprowadzonych badań.

Metodyka badań opisanych w niniejszej dysertacji obejmuje szereg różnorodnych metod z zakresu biologii komórki, biologii molekularnej i biochemii, takich jak prowadzenie hodowli komórek 2D i w ko-kulturach, uzyskiwanie adipocytów z mysich fibroblastów linii 3T3-L1 i ludzkich preadipocytów, tuczonych adipocytow i adipocytów związanych z nowotworem, analiza proliferacji, potencjału migracyjnego i inwazyjnego komórek CRC, analiza faz cyklu komórkowego metodą cytometrii przepływowej, zymografia żelatynowa, Western blot, barwienia cytochemiczne i immunocytochemiczne kropli lipidowych, spektrofotometryczne oznaczanie poziomu mleczanu w pożywkach kondycjonowanych i zawartości lipidów w adipocytach, badanie poziomu wybranych białek na poziome mRNA metodą RT-qPCR. Informacje dotyczące szczegółowych kwestii związanych z metodyką prowadzonych badań zostały zawarte w dwóch rozdziałach *Materiały i odczynniki* oraz *Metody*. W pierwszym z nich Doktorantka zestawiła w dziesięciu tabelach szczegóły dotyczące używanych przez siebie w poszczególnych procedurach linii komórkowych, pożywek hodowlanych i buforów, komercyjnie dostępnych testów i zestawów, przeciwciał i innych istotnych materiałów zużywalnych. Dodatkowo wymieniła wykorzystywaną specjalistyczną aparaturę oraz oprogramowanie niezbędne do zbierania czy analizy danych, oraz ostatecznej wizualizacji uzyskanych wyników. Rozdział *Metody* został w większości poprawnie opracowany. Doktorantka podała w ilu powtórzeniach biologicznych i technicznych były wykonywane poszczególne procedury oraz jakie testy były wykorzystywane do statystycznej analizy uzyskanych wyników. Ta cześć rozprawy doktorskiej ilustrowana jest sześcioma rycinami pokazującymi schematycznie tuczenie adipocytów, prowadzenie ko-kultur, zasady działania testu XTT i zestawu Lactate-Glo™ do oznaczania stężenia mleczanu, przykładowe obrazy dokumentujące migrację komórek CRC i analizę rozkładu faz cyklu komórkowego w komórkach wybarwionych jodkiem propidyny metodą cytometrii przepływowej. A jedyna tabela zamieszczona w tej sekcji przedstawia sekwencje starterów wykorzystywanych do

UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii
i Badań Biomedycznych

Zakład Biochemii
Glikokoniugatów

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: 12 664 64 62
fax: 12 664 51 01
http://www.uj.edu.pl/web/instytut-zoologii/jednostka/struktura/zaklad-biochemii-glikokoniugatow

UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii
i Badań Biomedycznych

Zakład Biochemii
Glikokoniugatów

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: 12 664 64 62
fax: 12 664 51 01

http://www.uj.edu.pl/web/instytut-zoologii/jednostka/struktura/zaklad-biochemii-glikokoniugatow

analizy ekspresji 12 białek w adipocytach zróżnicowanych i 22 w komórkach ludzkich metodą RT-qPCR.

Do tych dwóch rozdziałów mam następujące uwagi i pytania:

1. Skład buforu do transferu mokrego jest niepełny. Powinien on zawierać jeszcze 20% (v/v) metanol.
2. Dla komponentów składowych buforów wymienionych w Tabeli 1 nie zostały podane firmy, w których zostały one zakupione.
3. Zwyczajowo oprócz podania nazwy firmy, w której dokonano zakupu, podaje się jeszcze miejsce jej siedziby (miasto i kraj).
4. Zamiast terminu „przeciwciała drugorzędowe skoniugowane z HRP (str. 52)", lepiej używać terminu "sprzężone z HRP".
5. Podane na str. 58 warunki wirowania 1000x g przez 15 min nie odnoszą się do „prędkości". W takim przypadku powinny być podane RPM.
6. Zamiast „sygnał kolorymetryczny odczytywano" (str. 59) lepiej używać „mierzono absorbancję".
7. Dlaczego w teście inwazji (pkt. 4.2.4) i podczas prowadzenia hodowli w celu uzyskania pożywek kondycjonowanych (pkt. 4.7.1) używano w eksperymentach różnych ilości komórek poszczególnych linii CRC?
8. Błękit bromofenolowy, jako wskaźnik ruchliwości w SDS-PAGE, wychodzi z żelu poliakryloamidowego, a nie wypływa (str. 63).
9. Sekwencje starterów do PCR to zapis kolejności ułożenia zasad azotowych. Zatem zgodnie z obowiązującymi symbolami dla adeniny, cytozyny, guaniny i tyminy, czyli odpowiednio A, C, G i T, w Tabeli 11 startery powinny zostać zapisane dużymi, a nie małymi literami.
10. W Tabeli 11 dla następujących dziewięciu genów: *FADS1*, *FABP4*, *GLUT1*, *LIPE*, *MCT1*, *NHE1*, *OSBPL9*, *SC4MOL* oraz *perilipina 2* są zamieszczone dwa różne zestawy starterów, inne dla adipocytów zróżnicowanych, a inne dla komórek ludzkich. Z czego to wynika? Dobrze w tym miejscu byłoby dodać gatunek (mysz), gdyż dopiero na str. 83 zdefiniowany został termin „dojrzale komórki tłuszczowe".
11. Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowego może występować w formie utlenionej lub zredukowanej. Wtedy odpowiednio stosuje się skróty NAD+ oraz NADH. Zatem zgodnie ze stosowanymi powszechnie w biochemii skrótami, nie jest poprawne użycie jak rozwinięcia skrótu NAD+ następującego określenia „utleniona forma NADH" (legenda do Ryciny 18, str. 73).

UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii
i Badań Biomedycznych

Zakład Biochemii
Glikokoniugatów

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: 12 664 64 62
fax: 12 664 51 01
http://www.uj.edu.pl/web/instytut-zoologii/jednostka/struktura/zaklad-biochemii-glikokoniugatow

Wyniki uzyskane w efekcie przeprowadzonych przez Doktorantkę badań zostały zebrane na dwudziestu dziewięciu rycinach. Obrazy spod mikroskopu konfokalnego i mikroskopu świetlnego odwróconego są dobrej jakości i zawsze zawierają skalę. Tak samo jakość obrazów pokazujących wyniki immunodetekcji wybranych białek jest dobra. Dla obrazów przedstawiających prążki białkowe po barwieniu Ponceau S dobrze byłoby wskazać, który z widocznych prążków odpowiada masowo białku analizowanemu metoda Western blot. Wykresy są czytelne i mają we właściwych przypadkach zaznaczone istotności statystyczne. Legendy do tabel i rycin są kompletne. Dokumentacja graficzna wyników wraz z zasadniczo spójnym z nią opisem zajmują razem 47 stron. Chciałabym jednak zwrócić uwagę, że jeśli obserwowana zmiana jest nieistotna statystycznie, to nie powinno się pisać, że obserwowano wzrost lub spadek danego parametru tylko na podstawie średniej. Dotyczy to opisów do Ryciny 20B (perlipina 2) i Ryciny 24A (*ATGL*).

Doktorantka wykazała, że tuczone ludzkie adipocyty uprzednio różnicowane z preadipocytów miały większe krople lipidowe niż nietuczone komórki, a obserwowany wzrost rozmiaru kropli lipidowych był skutkiem wzmożonego wchłaniania kwasów tłuszczowych przez komórki, a nie lipogenezy *de novo*. W tuczonych adipocytach Doktorantka stwierdziła spadek ekspresji genów kodujących enzymy biorących udział w przemianach kwasów tłuszczowych (*FADS1, SCD1, LPCAT2*) i lipolizie (*LIPE*) oraz spadek aktywności kinazy Src. Do tej części opisu wyników mam dwie uwagi:

1. Stwierdzenie, że glutaminian jest włączany do cyklu kwasów trójkarboksylowych(str. 77) jest zbyt dużym uproszczeniem. Musi on najpierw ulec przekształceniu do α-ketoglutaranu w reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę glutaminianową.
2. Stwierdzenie, że cytuję „Nie zaobserwowano ... istotnych różnic w ilości enzymów zaangażowanych w syntezę lipidów, metabolizm glukozy i glutaminianu" (str. 83) to zbyt duży skrót myślowy, gdyż Doktorantka nie badała ekspresji wszystkich enzymów zaangażowanych w te procesy, szczególnie dotyczy do metabolizmu glukozy.

Ze względu na niewielkie zmiany zachodzące w ludzkich adipocytach pod wpływem tuczenia, w dalszych eksperymentach Doktorantka wykorzystywała dojrzale adipocyty uzyskane z mysich fibroblastów linii 3T3-L1, oraz trzy linie raka jelita grubego (LS180, HCT116 i LoVo) różniące się pochodzeniem i subtypem molekularnym. Doktorantka wykazała, ze wszystkie komórki raka jelita grubego, niezależnie od swojego pochodzenia (linie pierwotne – LS180 i HTC116, linia metastatyczna – LoVo) i subtypu molekularnego (metaboliczny - LS180, mezenchymalny - HCT116, immunologiczny – LoVo), były zdolne do przekształcenia adipocytów do adipocytów związanych z nowotworem (CAA). W CAA Doktorantka stwierdziła szereg zmian pod wpływem hodowli z komórkami CRC, co sumarycznie zostało przedstawione na Rycinie 32. Do tej części opisu wyników mam dwie uwagi:

UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii
i Badań Biomedycznych

Zakład Biochemii
Glikokoniugatów

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: 12 664 64 62
fax: 12 664 51 01
http://www.uj.edu.pl/web/instytut-zoologii/jednostka/struktura/zaklad-biochemii-glikokoniugatow

1. W świetle wyników przedstawionych na Rycinach 28-31, zbiorcza Rycina 32 powinna mieć moim zdaniem inna legendą. Kategorie „istotnie wyższy" i „istotnie niższy" odnoszą się do wartości zmienionych w sposób istotnie statystyczny w stosunku do kontroli. Zatem jest to faktyczny wzrost lub spadek. Kategorie „lekko podwyższony" i „lekko obniżony" odnoszą się do tendencji wzrostowej/spadkowej obserwowanej jedynie na podstawie średniej, ale to było nieistotne statystycznie.
2. Warto byłoby dodać na str. 93, że identyfikacji MMP2 w zymogramach dokonano jedynie na podstawie masy cząsteczkowej, a nie przez immunodetekcję.

Doktorantka wykazała ponadto, że hodowanie komórek raka jelita grubego w ko-kulturze z adipocytami wpływa na proliferację, migrację i inwazję komórek CRC, ale – wbrew temu co zostało napisane na str.117 – nie dotyczyło to każdej z badanych linii komórkowych, co widać gdy popatrzy się na przypadki istotne statystycznie na Rycinach 33, 36 i 37. Na str. 103 znajduje się informacja, że komórki linii HCT116 w warunkach kontrolnych szybciej zarastały ranę niż komórki pozostałych linii CRC. Myślę, że te wyniki warto było zamieścić w dysertacji, aby pokazać różnice w inwazyjnym potencjale poszczególnych linii CRC. Taki sposób prowadzenia hodowli komórek CRC (w ko-kulturze z adipocytami) powodował ponadto spadek ekspresji genu *CCDN1* kodującego cyklinę D1, która reguluje wejście komórek do cyklu komórkowego, oraz wzrost ekspresji genów kodujących przejścia pomiędzy poszczególnymi fazami cyklu (*CCNA2, CDK1 i CCNB1*) w liniach pierwotnych raka jelita grubego. Również wzrost zawartości kropli lipidowych we wszystkich testowanych liniach CRC, a wzrost poziomu syntazy kwasów tłuszczowych (FASN) oraz regulowanego przez insulinę transportera glukozy 1 (GLUT1) w jednej z linii pierwotnych CRC (HTC116/AD). Nie obserwowano jednak żadnych istotnie statystycznych różnic jeśli chodzi o aktywowanie trzech szlaków sygnałowych mierzonych poziomem fosforylacji białek Akt, Met i Erk1/2 (Rycina 39). Analiza poziomu ekspresji wybranych genów zaangażowanych w metabolizm i transport lipidów (*SC4MOL* i *OSBPL9*) wykazała ich wzrost w jednej z linii pierwotnych CRC (LS180/AD), a w transport glukozy – wzrost ekspresji *GLUT1* we wszystkich badanych liniach CRC, a *GLUT3*- tylko w jednej z linii pierwotnych CRC (LS180/AD). Dodatkowo w liniach pierwotnych raka jelita grubego wzrastała ekspresja genów kodujących transportery mleczanu (*MCT1* i *MCT4*). Poziom glutaminazy wzrastał we wszystkich liniach CRC, a dehydrogenazy mleczanowej A tylko w linii pierwotnej HTC116/AD. Analogicznie jak w przypadku Ryciny 32, na Rycinie 46 podsumowującej wpływ adipocytów na komórki raka jelita grubego zmiany istotne statystycznie (wzrost/spadek) powinny być wyraźnie odróżnione od zaobserwowanych tendencji wzrostowych/spadkowych.

Rozprawę doktorską kończy osiemnasto-stronnicowa dyskusja, w której Doktorantka omówiła znaczenie uzyskanych przez siebie wyników na tle dostępnej literatury

przedmiotowej. Analiza wyników własnych została przeprowadzona przez Doktorantkę w sposób konstruktywny i obiektywnie. W rozdziale *Dyskusja* jest sporo uwag o funkcjonalnym znaczeniu zmian ekspresji genów kodujących białka kluczowe dla zachowania stabilności kropli lipidowych czy genów kodujących główne transportery kwasów tłuszczowych w ludzkich preadipocytach tuczonych solami kwasu palmitynowego, oleinowego i linolowego. Doktorantka była świadoma, że wykorzystywany przez nią model badawczy imitujący tuczenie adipocytów odbiega od często stosowanego w tego typu badaniach modelu opartego na adipocytach izolowanych z tkanki tłuszczowej osób otyłych, co mogło przyczynić się do pojawienia się rozbieżności pomiędzy wynikami uzyskanymi przez Doktorantkę a tymi opisanymi w literaturze przedmiotowej. Doktorantka zwróciła również uwagę na ograniczenia i trudności związane z wykorzystywaniem w badaniach dotyczących oddziaływań pomiędzy adipocytami a komórkami raka jelita grubego, pierwotnych linii komórkowych (preadipocytów). Te trudności stały się powodem decyzji, aby w kolejnych eksperymentach wykorzystywać mysie fibroblasty linii 3T3-L1, które standardowo są stosowane w badaniach jako model adipocytów białej tkanki tłuszczowej. W adipocytach związanych z nowotworem uzyskanych w efekcie hodowli z komórkami raka jelita grubego Doktorantka stwierdzała zmiany analogiczne jakie otrzymano przez inne grupy badawcze pod wpływem oddziaływania adipocytów z komórkami innych typów nowotworów, a funkcjonalne znaczenie tych zmian zostało szeroko omówione. Podczas omawiania wpływ CAA na biologię komórek raka jelita grubego brakuje mi wyraźnego podsumowania czy obserwowane zmiany można powiązać ze stopniem zaawansowania raka (pierwotny *versus* metastatyczny) lub podtypem molekularnym. Moim zdaniem wnioski końcowe mogłyby być bardziej precyzyjnie sformułowane. Oba streszczenia dobrze oddają treść całej rozprawy doktorskiej.

Uwagi dotyczące strony edycyjnej rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska została napisana poprawianie od strony językowej i starannie przygotowana od strony edycyjnej. Nie mam większych zastrzeżeń co do poprawności formalnej manuskryptu, ale chciałaby zwrócić uwagę, że:

1. Nazwy genów powinny być pisane kursywą (str. 8, 99).
2. ATCC, ECACC, WHO to skróty od anglojęzycznych nazw własnych. Zatem ich rozwinięcia po polsku powinny zaczynać się od dużych liter (str. 8, 9, 11).
3. Dla dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego jako skrót powszechnie używany w biochemii przyjmuje się NAD+ lub NADH, co uwzględnia fakt czy jest on utleniony czy zredukowany (str. 10).
4. Skrótów się nie odmienia, zatem w tekście nie powinny pojawiać się wyrażenia „przepłukiwano/przemywano/przepłukano PBSem" (str. 60, 62, 71) i „rozcieńczono w PBSie" (str. 73).

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych

Zakład Biochemii Glikokoniugatów

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: 12 664 64 62
fax: 12 664 51 01
http://www.uj.edu.pl/web/instytut-zoologii/jednostka/struktura/zaklad-biochemii-glikokoniugatow

5. Cały tekst powinien być formatowany w taki sposób, aby cała rycina wraz z opisem znajdowała się na jednej stronie. Uwaga ta dotyczy Ryciny 19 i Ryciny 29.
6. Dane dotyczące nielicznych pozycji w *Bibliografii* i *Wykazie osiągnięć naukowych* są niekompletne – brak roku publikacji, nazwy czasopisma i/lub zakresu stron/numeru artykułu.

Wnioski końcowe

Na podstawie przedstawionego powyżej analizy jednoznacznie stwierdzam, że badania opisane w niniejszej rozprawie doktorskiej autorstwa Pani mgr Joanny Olszańskiej stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego dotyczącego wzajemnych oddziaływań pomiędzy komórkami raka jelita grubego a adipocytami obecnymi w niszy nowotworowej, a moje krytyczne uwagi nie umniejszają wysokiej oceny wartości merytorycznej ocenianej dysertacji. Doktorantka wykazała, że potrafi samodzielnie prowadzić badania i zrealizować postawione cele badawcze, ma dobrze opanowany warsztat badawczy, w skład którego wchodzą nowoczesne metody, a ponadto krytycznie analizuje otrzymane wyniki i interpretuje je na tle literatury przedmiotowej, potrafi trafnie wnioskować.

Z pełnym przekonaniem zatem stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Olszańskiej pod tytułem „*Wzajemne interakcje komórek raka jelita grubego za adipocytami, będącymi elementem niszy nowotworowej*" spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w artykule 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 poz. 742 z późn. zmianami). W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pani mgr Joanny Olszańskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.

dr hab. Małgorzata Przybyło, prof. UJ

Kraków, 20.03.2025 r.

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych

Zakład Biochemii Glikokoniugatów

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel.: 12 664 64 62
fax: 12 664 51 01
http://www.uj.edu.pl/web/instytut-zoologii/jednostka/struktura/zaklad-biochemii-glikokoniugatow