



Dziękuję
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego
Uniwersytetu
Łódzkiego dn. 17.11.2016
ŁÓDZKI
podpis Idz 2404
E. Jędrzejewski

Uniwersytet Łódzki

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Katedra Genetyki Molekularnej

dr hab. Tomasz Popławski, prof. UŁ

Łódź, 14. 11. 2016

Ocena pracy doktorskiej mgr Anny Walczak

pt. "Znaczenie ekspresji oraz polimorfizmów genów cytokin dla występowania i progresji nieswoistych chorób zapalnych jelit oraz raka jelita grubego"

Cytokiny zaliczane są do białek pełniących rolę mediatorów międzykomórkowych. Są one ważnymi czynnikami homeostazy tkanek regulując procesy wzrostu komórek, ich różnicowania, migracji czy apoptozy. Obecnie do rodziny cytokin zaliczono kilkaset białek produkowanych przez komórki różnego typu i wykazujących właściwości hematopoetyczne, proangiogenne, inhibitorowe, chemotaktyczne czy też prozapalne. Cytokiny odgrywają też jedną z głównych ról w patogenezie nowotworów. Uczestniczą przede wszystkim we wzajemnych oddziaływaniach pomiędzy elementami tworzącymi mikrośrodowisko guzów nowotworowych. Tym samym wpływają na wzrost, przeżycie i migrację komórek nowotworowych. Mogą również wspierać proces indukcji nowotworzenia przez mechanizmy wewnątrzkomórkowe (indukcja uszkodzeń DNA i inhibicja procesów naprawy DNA) oraz zewnątrzkomórkowe (utrzymując przewlekły stan zapalny). Ten drugi mechanizm jest szczególnie istotny w przypadku inicjacji większości nowotworów jelita grubego powiązanych ze wcześniejszym przewlekłymi stanami zapalnymi jelit. W powyżej opisaną tematykę dobrze wpisuje się recenzowana praca doktorska i stanowi wąski wycinek szerszego nurtu badań, w tym Promotora pracy prof. dr hab. Ireneusza Majsterka wraz z zespołem dotyczącego opracowania badań profilaktycznych oraz rozwoju skuteczniejszych strategii terapeutycznych nowotworów jelita grubego. Jest to tematyka bliska moim zainteresowaniom naukowym a techniki laboratoryjne w prezentowanej pracy przynajmniej w części są używane przez mój zespół. Tym samym mogłem czuć się kompetentny do oceny rozprawy przedstawionej do recenzji. W bazie PubMed znalazłem 17 pozycji pod nazwiskiem Walczak i imieniem Anna, z czego 10 można przypisać Doktorantce. Cała lista Jej publikacji obejmuje 14 pozycji z czego 10 to dobre publikacje w uznanych czasopismach. Z tej liczby 3 pozycje dotyczą bezpośrednio problematyki prezentowanej w pracy, pozostałe koncentrują się na innej tematyce. Sumaryczna wartość IF dorobku doktoranta przekracza 15. Całkiem nieźle jak na początek kariery naukowej.

Oceniana praca licząca 143 strony przygotowana jest według przyjętego kanonu dla dysertacji na stopień naukowy doktora w zakresie nauk eksperymentalnych. Rozpoczyna ją liczący 36 strony Wstęp w którym Doktorantka przedstawiła obecną wiedzę na temat nowotworów jelita grubego i ich mechanizmów rozwoju oraz nieswoistych chorób zapalnych jelit a także scharakteryzowała cytokiny, które są istotą w tej pracy doktorskiej i ich rolę w nowotworzeniu. Wszystkie zagadnienia zostały opisane w sposób kompetentny i przejrzysty. Stanowią one właściwe wprowadzenie w problematykę badawczą pracy doktorskiej. Nie dopatryłem się żadnych istotnych błędów zarówno w sferze tekstowej, tabelowej jak i ilustracyjnej. Ta ostatnia najczęściej oznacza zapożyczenia ale ze wskazaniem pochodzenia i

autorstwa. Ponieważ recenzent musi jednak pokazać swoją wnikliwość mam kilka uwag/komentarzy do tej części pracy.

Proszę o doprecyzowanie zdania „Wolne rodniki są wytwarzane w wyniku stresu oksydacyjnego oraz modyfikacji cząsteczek” (str. 29)? Jakich cząsteczek? Jakie jest źródło rycyny 1? Czy tylko cytokiny występujące w formie peptydów biorą udział w indukcji stanu zapalnego (str. 19)? Proszę wymienić „inne czynniki środowiskowe” (str. 13), które zaangażowane sprzyjają rozwojowi nieswoistych chorób zapalnych jelit. Zgadzam się ze stwierdzeniem, że „BER jest indukowany przy udziale wolnych rodników” (str. 38) ale czy tylko? Co Doktorantka rozumie przez „błędy replikacyjne” (str. 38)? Zwrot „JAK-2 szczególnie z mutacjami” (str. 37) jest nieprecyzyjny – prosiłbym więc o doprecyzowanie o jakie mutacje tutaj chodzi. Co Doktorantka miała na myśli pisząc „NHEJ i HRR zachodzą w sposób niekontrolowany” (str. 37). Bardzo prosiłbym Doktorantkę o rozwinięcie tej kwestii podczas publicznej obrony.

Cele pracy napisane są jasno i zrozumiale – nie ma najmniejszych wątpliwości do czego dąży Autorka – do analizy polimorfizmów i ekspresji genów kodujących cytokiny IL-8, IL-13 i MCP-1 w raku jelita grubego oraz nieswoistych chorób zapalenia jelit. Dodatkowo mgr Anna Walczyk podjęła próbę korelacji analizowanych danych z różnymi parametrami badanych patologii człowieka. Jakie było kryterium doboru trzech badanych cytokin?

Próba badana dobrana jest bardzo dobrze – materiał do badań stanowiła krew oraz wycinki zmienionych chorobowo tkanek jelita grubego. materiał ten został zgromadzony dzięki współpracy z Zespołami kierowanymi przez prof. Adama Dzikiego i prof. Jana Chojnackiego z odpowiednio Kliniki Chirurgii Ogólnej i Kolorektalnej oraz Kliniki Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych UM.

Nie wnoszę żadnych zastrzeżeń do bardzo dobrze opracowanej części prezentującej Materiały i Metody w pracy doktorskiej mgr Anny Walczak. W kolejnych ośmiu podrozdziałach tej części pracy wystarczająco dokładnie i jasno opisano techniki i metody molekularne zastosowane na poszczególnych etapach pracy dla realizacji założonych celów: izolacji i analizy kwasów nukleinowych, techniki RFLP-PCR oraz RT-PCR. Stosowane metody opisane zostały z dużą precyzją, co wskazuje na ich pełne zrozumienie przez Doktorantkę. Aczkolwiek mam wątpliwości czy w programie Statistica jest test t Welcha do testowania dwóch populacji zmiennych niezależnych z różną wariancją. Przynajmniej do wersji 11 stosowany był test Chochrana-Coxa. Nie jest też wyjaśnione jakie było kryterium wyboru właściwej metody do normalizacji ekspresji. W ten sposób przechodzimy do kluczowej części pracy doktorskiej – Wyników.

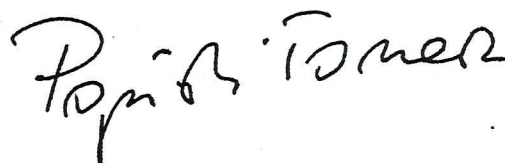
Lektura części doświadczałnej pokazuje, że wykonano rzetelny, rozległy zakres badań za pomocą logicznie uzupełniających się technik laboratoryjnych. Opis wyników poszczególnych eksperymentów został przedstawiony rzeczowo i kompetentnie w postaci 29 tabel i 15 wykresów. Nie rozumiem tylko dlaczego Doktorantka zrezygnowała z przedstawienia dokumentacji badań w postaci elektroforegramów rozdziałów produktów reakcji RFLP-PCR i RT-PCR? Część doświadczałną recenzowanej pracy doktorskiej można podzielić na dwie części dotyczące analizy zmienności genetycznej badanych genów oraz analizy ich ekspresji. Do najważniejszych oryginalnych wyników badań należy korelacja funkcjonalnych polimorfizmów badanych genów kodujących cytokiny z występowaniem nie tylko nowotworów jelita grubego ale również występowaniem nieswoistych stanów zapalnych jelit. U pacjentów z tym drugim schorzeniem mgr Anna Walczak zaobserwowała zwiększoną ekspresję badanych genów na poziomie RNA. Wyniki te mają potencjał diagnostyczny i w przyszłości mogą być podstawą do opracowania nowych markerów prognostycznych w diagnostyce klinicznej patologii jelita grubego człowieka.

Obszerna dyskusja wyników w odniesieniu do dobrze dobranej literatury naukowej, przeprowadzona jest we właściwy sposób. Wszystkie najważniejsze wyniki zrealizowanych badań zostały skonfrontowane z aktualną wiedzą w zakresie przedstawianego problemu badawczego.

Z punktu widzenia formalnego i edytorskiego praca przygotowana jest starannie z drobnymi wyjątkami i co należy podkreślić napisana jest poprawną polszczyzną. Wyjątki należą do tzw. „literówek” i można je policzyć na palcach jednej ręki.

Przystępując do oceny końcowej pragnę podkreślić, że badania zrealizowano zgodnie z wytyczonymi założeniami, z zastosowaniem właściwych metod badawczych, a uzyskane wyniki poprawnie zinterpretowano na podstawie analiz własnych i danych literaturowych. Badania zostały przeprowadzone kompetentnie, wnioski są przekonujące i stanowią dobrą podstawę do dalszych badań. Rozprawa jest znaczącym osiągnięciem Doktorantki i Jej Promotora i spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym. Stwierdzam, że dorobek naukowy kandydata uzasadnia nadanie stopnia naukowego doktora.

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Anny Walczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na charakter badań, ich potencjał diagnostyczny oraz dotychczasowy dorobek mgr Anny Walczak proszę o wyróżnienie tej rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.

A handwritten signature in black ink, reading 'Tomasz Popławski'. The signature is written in a cursive, slightly slanted style.

dr hab. prof. nadzw. UŁ Tomasz Popławski