



Warszawa, 2012-11-24

Ocena

rozprawy doktorskiej Pani mgr Klaudii Skrzypek p.t. „Role of microRNAs in non-small cell lung carcinoma: effect of heme oxygenase-1”

Oksygenaza hemowa (HO-1) odgrywa złożoną rolę w patogenezie nowotworów. Z jednej strony, poprzez aktywność antyoksydacyjną może pełnić rolę ochronną, zmniejszając ryzyko uszkodzeń makromolekuł komórkowych, a z drugiej, poprzez promowanie angiogenezy, wpływ na proliferację, śmierć, czy inwazyjność komórek może sprzyjać progresji nowotworów. Próba znalezienia nowych mechanizmów komórkowych, regulowanych przez HO-1 jest istotnym kierunkiem badań naukowych. **Dlatego rozprawa pani mgr Klaudii Skrzypek, która postanowiła zbadać wpływ HO-1 na metabolizm mikroRNA w komórkach nowotworowych, dotyczy ważnych i aktualnych zagadnień współczesnej nauki.**

We wstępie Pani mgr Klaudia Skrzypek bardzo dokładnie opisuje budowę, funkcje i regulację aktywności oksygenaz hemowych. Na rycinie 5.1 znajduje się błąd – biliwerdyna pod wpływem reduktazy powinna być przekształcana w bilirubinę. Jest też sporo nieprawidłowych sformułowań językowych, np.: „nuclear translocation can exert different implications in diseases” (str. 24). Niezbyt jasne jest określenie dotyczące „głodzenia nowotworów”, które może doprowadzić do ich “re-emission” (str. 29). ‘To lead’ w stronie biernej czasu przeszłego ma formę ‘led’, a nie ‘leaded’ (str. 30). W opisie na str. 36 dotyczącym roli enzymu Dicer jest błąd logiczny – jeśli opisywana jest jego rola w powstawaniu przerzutów nowotworowych, to nie może to prowadzić do konkluzji, że jest to ‘tumor suppressor’. Na stronie 48 Doktorantka pisze: „Moreover, Fus1-mediated tumor-suppressing activity in lung cancer requires myristoylation, what suggests a novel mechanism for the inactivation of tumor suppressors in lung cancer” – nie bardzo wiadomo jaki jest sens takiej konstrukcji zdania. Jest też kilka innych błędów logicznych, które moim zdaniem wynikają z tego, iż autorka starała się umieścić we wstępie bardzo dużo informacji dotyczących roli HO-1 w różnych zjawiskach i chorobach, regulacji mikroRNA i funkcji, które te mikroRNA pełnią w angiogenezie i progresji nowotworów. Są to raczej sucho przedstawione fakty, niekiedy niespecjalnie połączone w logiczną całość, a czasem zupełnie nie dotyczą przedstawionej do oceny rozprawy. Brakuje rozsądnego podsumowania przedstawionych w rozprawie dość luźno powiązanych ze sobą faktów. W opisie nowych celowanych terapii raka płuc brakuje informacji o jednym z najbardziej spektakularnych sukcesów onkologii w ostatnich latach, związanych z działaniem kryzotynibu u chorych z translokacją ALK.

Niewątpliwym atutem tej części rozprawy, w której opisane są wyniki przeprowadzonych badań, jest wykorzystanie przez doktorantkę szeregu nowoczesnych technik badawczych. Godny uznania jest zakres eksperymentów i jakość ich wykonania. Ta część rozprawy jednoznacznie wskazuje, że Doktorantka potrafi planować i wykonywać bardzo trudne analizy.

Autorka opisuje, że wprowadzenie dodatkowych kopii genu dla HO-1 do komórek niedrobnokomórkowego raka płuca NCI-H292 zwiększa ilość enzymów uczestniczących w



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Zakład Immunologii
Centrum Biostruktury

W rozdziale 8.2 Doktorantka opisuje badanie 'tumorigenicity' w warunkach hodowli komórkowych. Jest to błąd ponieważ 'tumorigenicity' jest zdolnością komórek nowotworowych do tworzenia guzów po wszczepieniu zwierzętom doświadczalnym. Nie było to celem przeprowadzonych doświadczeń.

Mój niepokój budzą doświadczenia, w których wyciszano ekspresję HO-1 przy użyciu siRNA. Na ryc. 8.7B pokazany jest wynik WB całkowicie sprzeczny z wynikiem przedstawionym na ryc. 8.1C. Przecież Doktorantka specjalnie wybrała do badań linię NCI-H292, w której nie ma ekspresji HO-1 (co zresztą dobrze ilustruje ryc. 8.1C), ale chce sprawdzić, czy wyciszenie w tych komórkach ekspresji HO-1 da wynik przeciwny do zwiększonej ekspresji uzyskanej w wyniku transdukcji. I tu nagle na rycinie 8.7B okazuje się, że komórki NCI-H292 mają całkiem sporo HO-1, którego ilość można wyciszyć przy użyciu siRNA. Również na ryc. 8.16C komórki NCI-H292 mają duże ilości HO-1. Porównując zdjęcia IF na rycinach 8.1D oraz 8.16D również widoczna jest różnica w ilości HO-1 między kontrolami. Na str. 109 Doktorantka opisuje: „The main advantage of HUVEC in those experiments is that they do not produce pro-angiogenic VEGF” – nie bardzo wiadomo jakie jest znaczenie tego uzasadnienia. Rycina 8.30 jest w ogóle nieczytelna. Wyniki przedstawione na rycinie 8.32B wskazują, że guzy kontrolne w ogóle nie rosły po wszczepieniu zwierzętom doświadczalnym.

Dyskusja pracy jest napisana podobnie jak wstęp. Imponująca jest ogromna wiedza Pani mgr. Klaudii Skrzypek. Niemniej w dyskusji Autorka powinna się przede wszystkim skoncentrować na krytycznej interpretacji wyników przeprowadzonych doświadczeń, omówić wnioski i wskazać ewentualne obszary, na które należy położyć nacisk w dalszych pracach badawczych.

Piśmiennictwo w pracy jest dobrze dobrane. Cytowane są aktualne prace oraz kluczowe, starsze publikacje.

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa, mimo wymienionych powyżej uwag, jest dobra i przybliżyła nas do lepszego zrozumienia biologii nowotworów. Wartość naukową rozprawy oceniam dość wysoko. Uzyskane wyniki przyczyniają się do lepszego zrozumienia mechanizmów regulujących złożone interakcje między różnymi, do niedawna wydawało się, że niezależnymi procesami biologicznymi. Wyniki te niewątpliwie inspirują do dalszych badań. Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia wymogi określone w Ustawie o tytule naukowym i stopniach naukowych. Wnoszę niniejszym do Wysokiej Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Klaudii Skrzypek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Zakładu Immunologii C.B.
prof. dr hab. med. Jakub Gołąb