



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej

ul. Przybyszewskiego 49
60-355 Poznań

tel. 61 869 1427
61 869 1532
www.ckdm.ump.edu.pl

Poznań, dnia 30.03.2020 r.

Ocena rozprawy doktorskiej mgr analityki medycznej Dągmary Szmajdy-Krygier pt.
„Ekspresja i polimorfizmy genów RUNX1, RUNX3 i CEBPA w ostrej białaczce limfoblastycznej” w związku z powierzeniem obowiązku recenzenta przez Radę Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

1. Znaczenie podjętych badań

Praca dotyczy próby identyfikacji mechanizmów związanych z patogenezą ostrej białaczki limfoblastycznej ALL. Przez wzgląd na częstość występowania tej choroby w naszej populacji podjęcie przedmiotowego zagadnienia jest niewątpliwie znaczące i zasługuje na uznanie. Pomimo wielu lat badań nad tym typem nowotworu pozostaje wiele aspektów, których identyfikacja mogłaby się zdecydowanie przyczynić do zwiększenia zdolności predykcji lub wcześniejszej diagnostyki ALL. Wydaje się, że kierunek obrany przez doktorantkę może mieć istotne znaczenie dla dalszego rozwoju nauki w kontekście skutecznego zapobiegania i leczenia wspomnianej choroby nowotworowej. Nie bez znaczenia jest fakt, że praca stanowi kontynuację jednego z wątków badawczych realizowanych przez promotora. Tak solidne przygotowanie warsztatu pozwoliło na odkrywcze badania i istotne wnioski płynące z niniejszej rozprawy.

2. Ocena pracy

A) Ocena merytoryczna

Pracę stanowi manuskrypt zawierający się na 146 stronach. Pierwsze 35 stron to wprowadzenie do przedmiotowego tematu, gdzie doktorantka z dużą swobodą prezentuje bieżący stan wiedzy dotyczący patogenezы ALL oraz zasad klasyfikacji choroby. Dane te poparte są odpowiednimi cytowaniami, szeregiem rycin i statystyk. Istotny element tej części rozprawy stanowi charakterystyka działań diagnostycznych w kierunku rozpoznania ALL oraz leczenia tej choroby.

Doktorantka przywołuje również znaczenie oporności na leki i niewrażliwości nowotworu na stosowaną terapię podkreślając wagę znaczenia tego zjawiska.

W dalszej części pracy można znaleźć ryciny i informacje dotyczące samych badanych genów z odpowiednim ich opisem dotyczącym mapy fizycznej, struktury i funkcji. Opis ten jest bardzo szczegółowy i sprawnie zaprezentowany. Wydaje się, że warto byłoby tę część poszerzyć o znany przecież aspekt metylacji badanych genów, nawet jeśli głównym przedmiotem badania pozostaje identyfikacja polimorfizmów. I tu należy wspomnieć, że zamienne stosowanie przez doktorantkę określenia „mutacja” lub „polimorfizm” nie znajduje uzasadnienia – strona 28, rs2268277/RUNX1. Podobnie, należy zaznaczyć, że gen CEBPA, jak i każdy inny ludzki, zbudowany jest z par zasad a nie zasad jak odnotowano na stronie 35. W sprawnie przedstawionym celu pracy zdecydowanie zabrakło wzmianki o aspekcie diagnostycznym badań, który w naturalny sposób wydaje się jednym z głównych.

Kolejna część pracy to Materiały i Metody, w których bardzo szczegółowo doktorantka zawarła opis stosowanych klasycznych ale i nowoczesnych metod molekularnych. Wydaje się, że objaśnienia te należałoby jednak wzbogacić o krótki opis pomiaru stężenia kwasów nukleinowych. Cenna część rozprawy to szczegółowy opis analizy statystycznej.

Patrząc szerzej na zaplanowane działania wydaje się, że nieco bardziej wartościowe wyniki dałoby się uzyskać stosując metodę sekwencjonowania. Wśród danych dotyczących metodyki zdecydowanie brakuje analizy krzywych topnienia produktów qPCR, zwłaszcza wizualizacji danych kontroli negatywnych oraz wartości wydajności poszczególnych reakcji czy informacji o liczbie powtórzeń biologicznych i/lub technicznych.

Idąc dalej, pojawia się pytanie o brak analizy poziomu białkowych produktów ekspresji poszczególnych genów. W świetle dostępności przeciwciał umożliwiających immunoidentyfikację wszystkich trzech białek wydaje się to konieczny kolejny etap badań.

Najcenniejszą część pracy stanowią oczywiście wyniki. Tu doktorantka biegle ilustruje i opisuje uzyskane za pomocą różnych metod molekularnych wyniki. Analiza dotyczy identyfikacji częstości występowania polimorfizmów w genach RUNX1 i RUNX3 oraz oceny poziomu ekspresji tych genów i genu CEBPA.

Wyniki prowadzą do konstruktywnych wniosków choć zaznaczyć trzeba, że odkrycie mechanizmu, w którym badane geny mogłyby zostać precyzyjnie wpisane to jeszcze kwestia przyszłości. Zwłaszcza w świetle braku korelacji pomiędzy badanymi polimorfizmami w genach RUNX1 i RUNX3 czy poziomem ekspresji tych genów a zachorowalnością na ALL. Pomimo braku jednoznacznych wyników w tej kwestii, dalsza szczegółowa analiza wykonana przez doktorantkę doprowadziła do ujawnienia potencjalnie istotnego klinicznie faktu dotyczącego dualistycznej roli

tych czynników transkrypcyjnych w kontekście potencjału onkogenego i supresorowego. Podobnie, wyniki dotyczące analizy ekspresji genu CEBPA nie wskazały na jego istotną rolę w patogenezie białaczki limfoblastycznej. Należy podzielić ostrożną opinię doktorantki o konieczności dalszych badań w przedmiotowej sprawie celem weryfikacji postawionej na początku rozprawy hipotezy. Na koniec należy podkreślić ogromną determinację doktorantki i jej dociekliwość, co widoczne jest w mnogości analiz statystycznych i prób znalezienia pozytywnych korelacji.

Dyskusja

Dyskusja jest bardzo ostrożna ale również dogłębna i wielowątkowa. Uwzględnia najnowsze pozycje literaturowe a doktorantka krytycznie podchodzi do swoich wyników w świetle doniesień światowych. Należałoby jednak zastanowić się i szerzej przedyskutować wątki dotyczące znaczenia badanych genów akurat w ALL. Być może poprzez dość szerokie spektrum występowania i działania badanych białek należałoby skomentować ich potencjalny udział w patogenezie innych chorób nowotworowych. Zabrakło też, oprócz deklaracji, jasnego pomysłu na dalszy plan badań z włączeniem choćby takich metod jak CHIP, WB i in.

Choć sama dyskusja jest dość ostrożna, to już wyciągane wnioski na podstawie wciąż jednak cząstkowych badań, wydają się być wyciągnięte nieco na wyrost. Bardzo trudno jest na podstawie dotychczasowych badań określić znaczenie badanych genów choć z drugiej strony postawienie nowej hipotezy jest nie lada wyzwaniem.

B) Strona formalna

Rozprawa została przygotowana bardzo starannie z zastosowaniem standardowych zaleceń. Daje się zauważyć nieco większą ilość błędów edytorskich od strony 30. Cytowane piśmiennictwo jest bogate, głównie z ostatnich lat. Pracę podsumowują dwa dobrze przygotowane streszczenia w języku polskim i angielskim. Poruszanie się po pracy jest łatwe między innymi dzięki zastosowaniu spisu tabel i bogatej oprawie graficznej. Załączony wykaz dorobku jest znaczący i na szczególną uwagę zasługuje duża aktywność doktorantki wyrażona udziałem w 16 konferencjach i zjazdach, z których doktorantka wracała z różnego rodzaju nagrodami i wyróżnieniami.

3. Wniosek końcowy

Doktorantka porusza w rozprawie bardzo aktualny, ciekawy i jednocześnie trudny temat. Sposób prezentacji uzyskanych wyników jest przejrzysty, a bogate ilustracje stanowią istotne wzbogacenie treści pracy. Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską stwierdzam, że Autorka przygotowała bardzo

ciekawą i wartościową rozprawę, zgodną z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Powyższe wnioski upoważniają mnie do zwrócenia się do Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr analityki medycznej Dągmary Szmajdy-Krygier do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wnikliwą analizę uzyskanych wyników oraz w związku z faktem ich opublikowania wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

Z poważaniem

Dr hab. Błażej Rubiś, prof. UM

Handwritten signature of Błażej Rubiś in blue ink.