



Poznań 17.11.2017

OCENA

Pracy doktorskiej pana mgr analityki medycznej Damiana Wodzińskiego pt.: „Ocena ekspresji wybranych czynników szlaku TGF- β w raku jelita grubego” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. farm. Ewy Balcerczak w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej Międzywydziałowej Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Tematyka, podjęta w rozprawie doktorskiej pana mgr analityki medycznej Damiana Wodzińskiego została poświęcona ciągle bardzo aktualnemu zagadnieniu analizy nowych mechanizmów, które mogłyby być użyte zarówno diagnostyce jak i w terapii chorób nowotworowych. Z uwagi na fakt, że choroby nowotworowe stanowią drugą główną przyczynę śmierci w krajach wysoko rozwiniętych, podjęty temat wydaje się być szczególnie istotny. Pomimo, że w chwili obecnej wszystkie wysiłki naukowców z kręgów nauk biomedycznych na całym świecie są pochłonięte walką z pandemią spowodowaną przez koronawirusa SARS-COV-2 to w momencie jej opanowania świat medyczny będzie musiał powrócić do walki ze wszystkimi odsuniętymi na drugi plan problemami zdrowotnymi ze zdwojonym wysiłkiem. Do takich problemów należą również choroby nowotworowe w tym rak jelita grubego, któremu w swoich poszukiwaniach naukowych postanowił przyrzeć się Doktorant analizując rolę wybranych czynników szlaku TGF- β regulujących wzrost komórek nowotworowych w raku jelita grubego.

Dysertacja ma typowy układ, na początku więc umieszczony został spis treści oraz wykaz użytych skrótów, dalsza część pracy jest podzielona na część teoretyczną i praktyczną. Część teoretyczna obejmuje, wstęp, oraz rozdziały poświęcone rakowi jelita grubego jako problemowi klinicznemu oraz rozdziały opisujące szlak TGF- β jak również geny RUNX3, TGFBI, ACVR2A jak również ich białkowe produkty. W części praktycznej zawarto informacje o celu pracy,

użytych materiałach i metodach, umieszczono też prezentację i podsumowanie wyników, znalazła się tam także dyskusja, wnioski, streszczenia w języku polskim i w języku angielskim oraz spis piśmiennictwa. Autor zamieścił także informację o swoim dotychczasowym dorobku naukowym.

Wstęp

W obszernym 60 stronicowym wstępie Autor przedstawił podstawowe problemy konieczne do dalszego zrozumienia celu przeprowadzonych badań, zastosowanych metod badawczych, a także interpretacji uzyskanych wyników. Wstęp zaczyna się, więc od charakterystyki nowotworów jelita grubego i dostarcza szczegółowych informacji dotyczących epidemiologii, etiologii, patogenez, objawów klinicznych, diagnostyki, podstawowych informacji dotyczących leczenia tego typu nowotworów i w tym przypadku osobne rozdziały zostały poświęcone leczeniu polipów jelita grubego, leczeniu raka okrężnicy, oraz leczeniu raka odbytnicy. W dalszej części teoretycznej Autor przedstawił informacje dotyczące szlaku sygnałowego TGF- β a także będących przedmiotem ich zainteresowania w części teoretycznej genów RUNX3, TGFB1, ACVR2A oraz ich produktów białkowych. Rozdział otwierający omawianą tutaj dysertację doskonale spełnia, więc swoje zadanie wprowadzenia do podejmowanych w niej problemów badawczych. Dodatkowo należy podkreślić, że informacje zawarte w tym, rozdziale są poparte prawidłowo dobranym piśmiennictwem. Zamieszczone jest dwanaście rycin i trzynaście tabel, które doskonale uzupełniają omawiane we Wstępie zagadnienia.

Cel pracy

Ten rozdział w większości rozpraw doktorskich ma charakter opisowy, w tym przypadku jednak Autor wypunktował poszczególne zadania badawcze, z którymi zamierzał się zmierzyć. Z pewnością było to spowodowane szerokim spektrum problemów, które Autor chciał ująć w swojej dysertacji. Forma którą posłużył się Autor pomimo, że nietypowa w tym szczególnym przypadku sprawiła, że podane tutaj informacje zaprezentowane zostały w sposób przejrzysty i pozwalają czytelnikowi zorientować się z zakresie badań które zostały zaplanowane i zrealizowane w niniejszej pracy.

Materiał i Metodyka

Rozdział zatytułowany „Materiał” odnosi się jedynie do materiału badawczego który był użyty do badań. Wykorzystano tutaj jak deklaruje Autor, archiwalne, zanonimizowane fragmenty tkankowe pochodzące od pacjentów z rakiem jelita grubego otrzymane z Zakładu Patologii

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zamieszczono tutaj informacje dotyczące sposobu w jaki zostały pobrane i zabezpieczone tkanki oraz informacje dotyczące zgód uzyskanych z Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, nie zamieszczono natomiast informacji dotyczących odczynników i sprzętu użytego do przeprowadzenia badań, choć przyznać należy, że informacje te zamieszczone zostały tekście, w rozdziale dotyczącym metodyki. Metodyka badań jest dobrze opisana i wydaje się, że będzie pomocna dla każdego, kto chciałby przeprowadzić podobne doświadczenia. W większości przypadków Autor posługiwał się gotowymi zestawami odczynników i zamieścił bardzo szczegółowe protokoły postępowania zastosowane w przypadku poszczególnych oznaczeń. Obok opisów postępowania analitycznego w poszczególnych oznaczeniach Autor dostarczył szeregu informacji dotyczących zastosowanych metod badawczych. W tym przypadku jednak, Autor nie ustrzegł się kilku niedociągnięć, które mogłyby sprawić trudność mniej doświadczonemu czytelnikowi i na które chciałbym tutaj wskazać. Tabele 16, 19 i 29 przedstawiają sekwencje starterów, jednak nie podano jak zostały one uzyskane czy pochodzą z piśmiennictwa czy zostały pozyskane przy pomocy baz internetowych. Rozdział 9.5 nasuwa pytanie: czy metodyka elektroforezy na żelu agarowym została opracowana przez Autora czy została zaadoptowana z piśmiennictwa? Ryciny 14-17 przedstawiają „wykresy fluorescencji dla genów badanych w reakcji real-time PCR” pomimo, że osie tych wykresów są podpisane brak jest wyjaśnień do czego odnoszą się poszczególne linie widoczne na wykresie, podobnie zresztą jak na wykresach pokazanych na rycinach 18-25. W tabeli 26 nie podano skąd uzyskano informacje o charakterystycznych dla powstałych produktów temperatur topnienia i czy temperatury topnienia produktów to, to samo co „temperatury topnienia genów” wymienione w tabeli 26? Pod koniec strony 97 jest mowa o metodzie Pfaffl'a, prawdopodobnie czytelnikowi tej pracy mogłoby pomóc cytowanie odnoszące się do opisu tej metody szczegółowo wyjaśniające to zagadnienie. Generalnie w tym rozdziale można odnieść wrażenie lekkiej dysproporcji pomiędzy szczegółowymi opisami zaczerpniętych z protokołów załączonych do komercyjnie dostępnych zestawów odczynników procedur analitycznych i bardzo lakonicznymi (jednakże kluczowymi dla zrozumienia strategii badawczych) opisami innych procedur dotyczących np. wyznaczania punktów wejścia reakcji w fazę logarytmicznego wzrostu czy temperaturami topnienia produktów reakcji.

Wyniki

W tej bardzo obszernej sekcji Autor zaprezentował wyniki uzyskane w trakcie realizacji badań oraz dokonał ich korelacji z danymi, które zostały uzyskane podczas badań i procedur diagnostycznych zastosowanych w trakcie leczenia pacjentów, których tkanki zostały użyte w

tym projekcie. Już na początku tego rozdziału mniej wtajemniczony czytelnik będzie miał problem ze zrozumieniem czym jest jedno z kluczowych pojęć używanych w tym rozdziale: „względny poziom ekspresji genu” i jak był obliczony. Wydaje mi się, że ta informacja powinna być zawarta w rozdziale dotyczącym metod badawczych. Rozdział „Wyniki” jest podzielony na 2 zasadnicze części. Pierwsza z nich to ocena względnych poziomów ekspresji genów ACVR2A i TGFB1 w powiązaniu z parametrami demograficzno – patologicznymi pacjentów a druga to ocena metylacji w obrębie regionu promotorowego genu TGFB1 w powiązaniu z parametrami demograficzno – patologicznymi pacjentów. Uzyskane wyniki przedstawione są na wykresach i w tabelach. Przedstawiając cały szereg bardzo interesujących danych które z pewnością po starannej obróbce i analizie rzucą nowe światło na procesy związane ze szlakiem TGF- β w raku jelita grubego, choć nie sposób oprzeć się wrażeniu, że mnogość danych oraz sposób prezentacji utrudnia nieco ich analizę. Byłoby dużo łatwiej zapoznać się z danymi uzyskanymi przez Autora gdyby postarał się On prezentować uzyskane dane według trochę bardziej ujednoczonej formuły starając się zmieścić na jednej stronie manuskryptu komplet danych (wykres, tabelka i komentarz) tak aby czytelnik mógł już na pierwszy rzut oka zorientować się w prezentowanych danych. Nie umniejsza to jednak w najmniejszym stopniu faktu, że zebrane przez Autora dane są bardzo cenne z punktu widzenia wiedzy o patofizjologii nowotworów jelita grubego.

Dyskusja

W tym rozdziale Autor syntetycznie podsumowuje całość pracy w sposób niezwykle szczegółowy konfrontując uzyskane wyniki w poszczególnych etapach pracy z wynikami z dostępnymi do tej pory danymi literaturowymi, co w efekcie daje możliwość szerokiego spojrzenia na zjawiska związane ze szlakami sygnałowymi w raku jelita grubego w tym, nie tylko z będącym w centrum zainteresowania Autora szlakiem TGF- β i nie tylko w nowotworach jelita grubego. Biorąc pod uwagę szerokie spektrum zagadnień poruszanych przez Autora, należy wyrazić uznanie za wnikliwe przeszukanie baz danych i dostępnego tam piśmiennictwa oraz ich umiejętne przedstawienie i przedyskutowanie w świetle danych uzyskanych w trakcie realizacji tej pracy. W tym kontekście zwłaszcza zasługuje na uznanie ujęcie ich w krótkich dobrze skomponowanych akapitach z których składa się ten rozdział.

Wnioski

W tym paragrafie Autor w 11 punktach podsumował uzyskane wyniki oraz wskazał na dalsze kierunki badań wymieniając po kolei większość zaobserwowanych zależności lub wskazując na

ich brak. Na szczególne uznanie zasługuje fakt, że Autor podsumowując uzyskane dane przypisuje im jedno w większości przypadków celne zdanie podsumowujące cały wniosek i w mojej opinii bardzo dobrze podsumowujące uzyskane wyniki. Co ciekawe i nietypowe w tym rozdziale Autor zamieścił również informację o dalszych planach badawczych związanych z kontynuacją tematów poruszonych w tej pracy doktorskiej.

Piśmiennictwo, streszczenia

Pracę zamyka lista piśmiennictwa. Piśmiennictwo jest dobrze dobrane, aktualne i w zdecydowanej większości anglojęzyczne. Uszeregowane w porządku alfabetycznym. Praca zawiera też dobrze napisane streszczenia zarówno w języku polskim i angielskim.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na drobne i bardzo nieliczne niedociągnięcia edytorskie jak i stylistyczne znalezione głównie w Dyskusji. Czytelnikom szczególnie wyczulonym na poprawność języka mogą nie przypaść do gustu określenia bardzo nieliczne określenia żargonowe stosowane w rozdziale dotyczącym metodyki.

W podsumowaniu uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi dojrzałe i kompleksowe rozwiązanie postawionego przez Doktoranta problemu badawczego i świadczy o dojrzałości naukowej pana mgr analityki medycznej Damiana Wodzińskiego. Dlatego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) wnoszę, zatem wniosek do Rady Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie pana mgr analityki medycznej Damiana Wodzińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Katedry i Zakładu Toksykologii
Uniwersytetu Medycznego


Prof. dr hab. Marek Murias

