



Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Zawadzkiej

„Polimorfizmy i ekspresja genów kodujących białka z rodziny ABC w raku płuca”

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Powierzona mi do recenzji praca była realizowana w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi. Promotorem pracy jest prof. dr hab. n farm Ewa Balcerczak.

1. Znaczenie podjętych badań

Tematyka pracy dotyczy ciągle niestety aktualnego problemu oporności komórek nowotworowych na leki. Koncepcja, której podjęła się doktorantka to kwestia wykorzystania farmakogenetyki i farmakogenomiki do celów prognostycznych oraz terapeutycznych. Wydaje się, że w kontekście istnienia ogromnej ilości czynników ryzyka, jedyną metodą ograniczania śmiertelności z powodu chorób nowotworowych jest wczesna diagnostyka lub identyfikacja grupy osób o podwyższonym ryzyku. Tym samym Doktorantka podjęła próbę oszacowania znaczenia roli jednego z polimorfizmów genu reprezentującego rodzinę białek ABC (ABCB1) oraz poziomu ekspresji tego genu w procesie nowotworzenia ale i w odpowiedzi na terapię przeciwnowotworową. Z diagnostycznego punktu widzenia czynniki te mogą mieć również charakter prognostyczny. Jako model doświadczalny do badań posłużył rak płuca. I tu dodać należy, że statystyki pokazują, że jest to jedna z wiodących przyczyn śmierci Polaków. Dlatego wybór modelu był dobry i uzasadniony. Pozostaje jedynie niedosyt w kontekście potencjalnej możliwości wykorzystania i przełożenia zebranych danych na inne narządy; choć mogłoby to być poczytane jako nadużycie.

2. Ocena pracy

A) Ocena merytoryczna

Doktorantka jasno zdefiniowała założenia i cel pracy i konsekwentnie dążyła do ich realizacji. Analiza wieloczynnikowa uzyskanych wyników na pewno zasługuje na docenienie w kontekście dociekliwości zwłaszcza przy relatywnie niezbyt licznej grupie przebadanych osób. Doktorantka posłużyła się nowoczesnymi metodami molekularnymi oraz bogatą analizą statystyczną, co niewątpliwie podnosi jakość uzyskanych wyników i odbiór pracy. Rozprawa została dobrze udokumentowana graficznie, co ułatwia śledzenie toku rozumowania i kolejnych kroków postępowania badaczki. Wstęp jest obszerny i zawiera wszelkie istotne informacje pozwalające na przybliżenie kontekstu podjętych badań. Zawarto w nich zarówno informacje z zakresu epidemiologii, czynników ryzyka i molekularnych podstaw nowotworzenia. Ta część została wzbogacona o dobry opis obrazu klinicznego choroby. Aspekt diagnostyczny został wzbogacony o wielowymiarową analizę od podstawowego po molekularny. Nie zabrakło również danych z zakresu klasyfikacji nowotworów i reżimu terapeutycznego. Dobrze opisano metodykę. Wyniki zostały dobrze opisane na licznych, poprawnie i informatywnie opisanych rycinach. Dyskusja jest wielowątkowa i ostrożna – momentami nawet za bardzo – zwłaszcza w przypadku ostatniego akapitu, gdzie zabrakło odrobiny kreatywności aby pospekulować na temat możliwego powiązania poziomu ekspresji genu ABCB1 z parametrami hematologicznymi. Sam brak takich rozważań w piśmiennictwie nie powinien limitować kreatywności Doktorantki.

W kontekście ewentualnych sugestii – wydaje się, że cel lub dalsza analiza powinny być rozszerzone o dane dotyczące innych niż tylko palenie papierosów czynników środowiskowych. Warto byłoby uzupełnić nomenklaturę polimorfizmów i klasyfikację RS.

W sekcji wnioski Doktorantka zawarła 13, nieponumerowanych fraz, które nie stanowią jednak wniosków a jedynie/aż podsumowanie uzyskanych wyników i poczynionych obserwacji.

B) Strona formalna

Rozprawa została przygotowana bardzo starannie z zastosowaniem standardowych zaleceń. Cytowane piśmiennictwo jest bogate, głównie z ostatnich lat. Pracę podsumowują dwa streszczenia w języku polskim i angielskim. Poruszanie się po pracy jest łatwe między innymi dzięki zastosowaniu bogatej oprawy graficznej.

W kwestii uwag recenzenta:

1. Nomenklatura raka płuca powinna być ujednolicona i to wersja „rak płuca” a nie „rak płuc” powinna być obowiązująca.

2. Korekty wymaga numeracja stron w spisie treści – jest nieadekwatna do treści pracy.
3. Rycina 15/16 – brak informacji o liczbie par zasad poszczególnych prążków markera wielkości.
4. Tabela 18 – nie wiadomo czy chodzi o wyjściowe czy o końcowe stężenie/objętość starterów.
5. Tabela 19 – jeśli już zastosowano formę anglojęzyczną to wymaga ona korekty – powinno być „Annealing” a nie „Anealing”.
6. Uzasadnienia wymaga zastosowanie tylko 30 cykli w reakcji PCR.
7. Strona 69 – produkty rozdzielamy „w” a nie „na” żelu.
8. Tabela 20 – informacja o objętościach jest mało przydatna przy braku stężeń wyjściowych.
9. Strona 79 – jeśli mówimy o polimorfizmach trudno zamiennie stosować termin wariant zmutowany.
10. Rycina 40 – bardzo dobra rycina choć brakuje (jak już wyżej wspomniano) odniesienia do innych czynników środowiskowych – co oczywiście może być trudne ale warto podkreślić takie okoliczności/możliwości.
11. Zastosowano jako gen referencyjny tylko jeden gen – GAPDH. Nie ma uzasadnienia ani dla liczby ani dla wyboru tego właśnie genu. Warto dodać, że gen GAPDH, choć należy do genów o ekspresji konstytutywnej, to jednak podlega modyfikacji adekwatnie do intensywności glikolizy (aktywności metabolicznej komórki) oraz koreluje ze stopniem zaawansowania i złośliwości nowotworu. W konsekwencji trudno uznać go za wyrocznię i jednoznaczny punkt odniesienia.
12. Tabela 30 – niewielka liczba pacjentów poddanych analizie (2-6) utrudnia jednoznaczną interpretację.
13. Dyskusja – już w pierwszym akapicie pojawiają się błędy edytorskie – „tracz” zamiast „tarcz”.
14. Skrót ABC został błędnie zdefiniowany.
15. Wydaje się, że stosowanie terminu „rasa” jest lekkim nadużyciem – choć jest to oczywiście bardzo subiektywne odczucie
16. Warto byłoby podzielić sekcję „Dyskusja” na podrozdziały.
17. Warto byłoby zastosować zunifikowaną i aktualną nomenklaturę odnośnie genu i białka ABCB1 – odpowiednio *ABCB1* (kursywa), dla genu oraz ABCB1, zamiast P-gP/glikoproteina P, dla białka.
18. Streszczenia zawierają liczne błędy językowe.

19. Wnioski – to zbiór nieponumerowanych 13 fraz, które stanowią raczej podsumowanie niż wnioski.

3. Wniosek końcowy

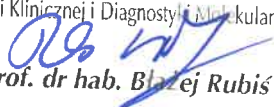
Doktorantka porusza w rozprawie bardzo aktualny, ciekawy i jednocześnie trudny temat. Sposób prezentacji uzyskanych wyników jest przejrzysty, a bogate ilustracje stanowią istotne wzbogacenie treści pracy. Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską stwierdzam, że Autorka przygotowała bardzo ciekawą i wartościową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

Przedstawiona mi do recenzji praca mgr Izabeli Zawadzkiej pt.: „Polimorfizmy i ekspresja genów kodujących białka z rodziny ABC w raku płuca” w pełni odpowiada wymogom pracy na stopień doktora określonym w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. 2018 poz. 261).

W związku z powyższym stawiam wniosek i dopuszczenie kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Powyższe wnioski upoważniają mnie do zwrócenia się do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Izabeli Zawadzkiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

Kierownik Katedry i Zakładu
Chemii Klinicznej i Diagnostyki Mikroskopijnej


Prof. dr hab. Błażej Rubiś