



WYDZIAŁ BIOCHEMII, BIOFIZYKI I BIOTECHNOLOGII

Zakład Mikrobiologii

Dr hab. Joanna Koziel, prof. UJ

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani magister Joanny Pastwińskiej zatytułowanej
„Regulacja procesu adhezji komórek tucznych do składników macierzy pozakomórkowej w
warunkach niedoboru tlenu”**

Przedstawiona do oceny dysertacja została wykonana pod kierunkiem promotora pana prof. dr hab. Jarosława Dastycha w Zakładzie Mikrobiologii i Immunologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz w Pracowni Immunologii Komórkowej Instytutu Biologii Medycznej PAN.

Celem przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej była weryfikacja hipotezy zakładającej, że stężenie tlenu reguluje proces adhezji komórek tucznych między innymi do komponentów macierzy zewnątrzkomórkowej. Ponieważ stężenie tlenu w organizmie człowieka jest zróżnicowane i może ulegać obniżeniu w stanach patologicznych, stąd istotnym zagadnieniem jest określenie jego wpływu na funkcje komórek układu odpornościowego, w tym komórek tucznych.

Formalny opis rozprawy

Rozprawa została przedstawiona jako zestaw spójnych tematycznie trzech publikacji w tym dwóch doświadczalnych i jednej przeglądowej, co jest zgodne z zapisem zawartym w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki mówiącym, że rozprawa doktorska może mieć formę „(...) *spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopiśmie naukowym (...)*”. Teksty tych publikacji stanowią integralny element rozprawy, a poprzedza je kilkudziesięciostronicowe wprowadzenie w języku polskim. Do rozprawy dołączono także oświadczenia wszystkich współautorów publikacji, w których opisano zakres prac poszczególnych wykonawców oraz zadeklarowano ich udział procentowy w powstawaniu poszczególnych publikacji. Z powyższych wynika, że Doktorantka miała wiodący udział w powstawaniu tych prac, a według moich wyliczeń jej udział można oszacować na bardzo wysoki, sięgający 50-60%. Wskazuje to na samodzielność i dojrzałość naukową Doktorantki, zatem warto by było podczas publicznej obrony przedstawić czytelnie udział Pani Pastwińskiej wyszczególniając precyzyjnie jej rolę np. w planowaniu badań, czy wykonywaniu konkretnych eksperymentów. Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa spełnia kryteria formalne wymagane dla tego typu prac.

Ocena merytoryczna pracy

Rozprawa doktorska koncentruje się na badaniach adhezji komórek tucznych w warunkach hipoksji. W skład przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej wchodzi dwie publikacje eksperymentalne, których Doktorantka jest pierwszą autorką. Opisane w nich badania skupiają się głównie na zagadnieniu adhezji komórek tucznych do fibronektyny i kwasu hialuronowego. Doktorantka w swoich badaniach korzystała z modelu *in vitro* linii

komórkowej LAD2, które cechuje wysokie podobieństwo do komórek pierwotnych. Wykazała ona istotną, tak jak zakładała, rolę stężenia tlenu w procesie adhezji komórek LAD2. Doktorantka ubogaciła poczynioną obserwację o próbę wyjaśnienia jej molekularnych podstaw, badając m.in. ekspresję receptorów odpowiedzialnych za interakcję komórek tucznych z badanymi komponentami macierzy zewnątrzkomórkowej czy zaangażowany w ten proces szlak przekazu sygnału komórkowego. Autorka w pełni zrealizowała zaplanowane cele stosując liczne, adekwatne do potrzeb metody, co dowodzi, że dobrze opanowała ona warsztat badawczy. Do najważniejszych osiągnięć badań prowadzonych przez Panią Pastwińską można zaliczyć wykazanie wzrostu adhezji komórek tucznych do fibronektyny i zahamowanie adhezji do kwasu hialuronowego w warunkach hipoksji wraz z częściowym wyjaśnieniem mechanizmu tych zjawisk. W mojej opinii obie publikacje doświadczalne posiadają wysoką wartość naukową, a zastosowana metodologia badań jest poprawna. Prace, którymi legitymuje się Doktorantka zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach (*Cell Adhesion and Migration*, IF=3,405; *Immunologic Research*, IF=2,829) i przyjęte do druku przez niezależnych redaktorów. W związku z lekturą tych prac oraz całą treścią rozprawy mam kilka pytań:

1. W publikacji opisującej rolę hipoksji w regulacji adhezji komórek tucznych do fibronektyny Autorka wykazała (Figura 1 C) istotne statystycznie zmiany regulacji ekspresji genów, które w późniejszych badaniach nie były analizowane, np. *ITGA7*, *ITGAL*, *ITGAV*, *ITGAX*, czy *ITGA9*. Czy wspomniane wyniki mogą stanowić cenną obserwację z punktu widzenia immunomodulacyjnych właściwości stężenia tlenu względem komórek tucznych?
2. W tej samej pracy na stronie 108 stwierdzono, że w warunkach normoksji komórki tuczne nie adherują do peptydu RGD, który odpowiada fragmentowi fibronektyny rozpoznawanemu przez integrynę. Czy alternatywnym do zaprezentowanej pracy wyjaśnieniem zakładającym wzrost ekspresji integryn mogłoby być założenie, że w zależności od stężenia tlenu inny fragment fibronektyny niż RGD będzie preferencyjnie rozpoznawany przez integryny?
3. W tej samej pracy (strona 112) pojawia się stwierdzenie, że obniżony poziom tlenu w różnych schorzeniach sprzyja nasilonej akumulacji komórek tucznych. Czy zostało dookreślone, że jest to skutek nasilonej migracji tych komórek, ich zwiększonej adhezji, czy może także wydłużenia czasu ich życia?
4. W obydwu pracach eksperymentalnych Doktorantka odnosiła wyniki analizy ekspresji badanych genów do trzech różnych genów referencyjnych. Który z nich został ostatecznie wykorzystany celem analizy wyników i dlaczego?

Warto nadmienić, że publikacje eksperymentalne autorstwa pani Pastwińskiej są ubogaczone o dojrzałe dyskusje. Doktorantka nie tylko odnosi wyniki swoich badań do odkryć innych autorów, ale także stawia odważne, choć wyważone hipotezy, więc lektura dyskusji tych prac stanowi prawdziwą przyjemność. Warta uwagi jest także praca przeglądowa, w której Autorka szczegółowo opisuje mechanizmy adhezji komórek tucznych. Publikacja opatrzona jest bardzo dobrej jakości rycinami oraz tabelami, które ułatwiają lekturę tekstu. Praca ta

wskazuje na doskonałe przygotowanie merytoryczne pani Pastwińskiej do realizacji badań eksperymentalnych w wiodącej dla niej tematyce badawczej.

Ocena edytorska

Rozprawę pani magister Pastwińskiej rozpoczyna syntetyczny i dobrze skonstruowany rozdział napisany w języku polskim, który wprowadza czytelnika w tematykę pracy. Podzielony jest on na podrozdziały i składa się z: wprowadzenia, celu pracy, metodyki badań, omówienia wyników, wniosków oraz streszczeń w języku polskim i angielskim oraz wykazu piśmiennictwa. Nieco niefortunnym dla tradycjonalistów może się wydawać ulokowanie streszczenia pracy pod koniec tego rozdziału. Praca opatrzona jest także w załączniki, jakimi są: teksty dwóch publikacji eksperymentalnych oraz jednej przeglądowej (omówionych powyżej) i oświadczenia współautorów publikacji. Cele pracy zostały jasno sprecyzowane i korespondują z założeniami publikacji eksperymentalnych autorstwa Doktorantki. Omówienie uzyskanych wyników i wniosków płynących z wykonanych badań jest syntetyczne. W pracy można doszukać się drobnych niedociągnięć, w tym pojedyncze błędy językowe, gramatyczne i interpunkcyjne. Nie dodano numeracji stron. Należy jednak podkreślić, że cała rozprawa została przygotowana z dużą starannością.

Podsumowanie

Chciałabym w swojej recenzji podkreślić wartość naukową przeprowadzonych przez Doktorantkę badań i spójność tematyczną rozprawy. Założone cele, możliwe do osiągnięcia dzięki wszechstronnemu warsztatowi metodycznemu, zostały w pełni zrealizowane a uzyskane wyniki stanowią cenny przyczynek do pogłębienia wiedzy w temacie immunomodulacyjnej roli stężenia tlenu w biologii komórek tucznych. Ponadto, zaangażowanie Pani Pastwińskiej nie ograniczało się do przygotowania prac wchodzących w skład niniejszej rozprawy jest ona bowiem także współautorką sześciu innych publikacji naukowych, w tym czterech poglądowych, co jest znaczącym dorobkiem naukowym. O aktywności Doktorantki świadczy również udział pani Pastwińskiej w konferencjach naukowych, w tym takich o zasięgu międzynarodowym. Ponieważ przedstawiona rozprawa doktorska spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, zatem wnoszę do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Joanny Pastwińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Uważam również, że praca doktorska kwalifikuje się do wyróżnienia.

Dr hab. Joanna Kozieł, prof. UJ

