

Katedra i Zakład
Immunologii i Serologii

41-200 Sosnowiec,
ul. Jedności 8
www.sum.edu.pl

KIEROWNIK
KATEDRY I ZAKŁADU
Prof. dr hab. n. med.
Zdzisława Kondera-Anasz
tel.: (+48 32) 364 12 70

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 364 12 40
tel.: (+48 32) 364 12 41
tel.: (+48 32) 364 12 62
tel.: (+48 32) 364 12 72
fax: (+48 32) 364 12 63
seroimm@sum.edu.pl



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

OCENA

rozprawy doktorskiej

Pani magister Małgorzaty Łagiedo - Żelazowskiej

p.t.: "Wpływ aktywnego biologicznie białka A związanego

z surfaktantem płucnym (SP-A) na komórki raka płuca

A549, Calu-3 oraz fibroblasty płucne CCD-39Lu"

Duża liczba zachorowań oraz największa liczba zgonów wśród pacjentów onkologicznych chorych na raka płuca wymaga lepszego poznania biologii tego nowotworu, dzięki czemu można będzie wprowadzić bardziej skuteczne leki i schematy leczenia. W wyjaśnienie tak trudnych problemów dobrze wpisuje się rozprawa doktorska Pani mgr Małgorzaty Łagiedo - Żelazowskiej, która powstała w prężnej jednostce naukowej pod kierunkiem Promotora Pana prof. dr hab. Jana Sikory, oraz dr hab. Mariusza Kaczmarka - Promotora pomocniczego.

Tytuł pracy w sposób jasny informuje o tematyce i zakresie prowadzonych badań. Tematyka pracy jest oryginalna i aktualna. Układ pracy jest typowy dla rozpraw doktorskich. Dysertacja jest starannie zredagowana na 129 stronach, zawiera 15 czytelnych tabel i 57 starannie wykonanych rycin. Strona graficzna pracy dobrze ilustruje informacje pomocne do przedstawienia założeń pracy oraz pomaga prezentować uzyskane przez Doktorantkę wyniki.

W starannie zredagowanym Wstępie podzielonym na podrozdziały, Doktorantka dobrze wprowadza w tematykę badawczą. Na początku charakteryzuje raka płuca, omawia jego występowanie, postacie oraz

2/20

przedstawia aktualne możliwości jego leczenia. Chociaż praca jest starannie zredagowana to w tej części pojawiają się troszkę niezręcznie brzmiące zwroty takie jak "zgony nowotworowe, rozpoznanie mikroskopowe, linie leczenia, zdrowe komórki czy konwencjonalne limfocyty T".

Kolejna dość krótka część Wstępu to omówienie roli, powstawania i składu płynu opłucnowego w warunkach fizjologicznych i u chorych na raka płuca. Dużo miejsca we Wstępie zajmują informacje dotyczące immunologii raka płuca. Są tu informacje o receptorach rozpoznających molekularne wzorce ze szczególnym uwzględnieniem receptorów związanych z komórkami raka płuca. Szczegółowo zostały przedstawione molekularne wzorce PAMP i DAMP. Mam kilka uwag do tej części Wstępu. Fragment zdania "receptory rozpoznające bakterie NOD - podobne" brzmi dość dziwnie sugerując istnienie jakiegoś rodzaju bakterii. W tym rozdziale jest także zamieszanie z nazwami molekularnych wzorców. DAMP na str. 24 ma w angielskiej nazwie słowo "damage", a na stronie 25 - "danger". W tytule rozdziału 4.1. zamiast słowa "zagrożenie" należy konsekwentnie używać słowa "patogen", a w rozdziale 4,2. może lepiej byłoby napisać "wzorce molekularne związane z uszkodzeniem komórek". W przyszłości przygotowując pracę do opublikowania dobrze byłoby to uporządkować i ujednolicić.

Kolejny fragment Wstępu poświęcony jest procesowi apoptozy, a dokładnie białkom regulacyjnym BAX i BCL. Następnie Doktorantka opisuje cytokiny zaangażowane w proces nowotworzenia. Opisując jedną z cytokin pisze: "Czynnik martwicy nowotworów", tymczasem słowo "nowotwór" powinno być użyte w liczbie pojedynczej. Rozdział 6 Wstępu poświęcony jest surfaktantowi płucnemu. Doktorantka opisuje tu skład, właściwości i funkcje poszczególnych składników surfaktantu, a także receptory komórkowe dla białka SP-A. Na str. 29 jest niezbyt zrozumiały zwrot "zanieczyszczone białka osocza". A w rozdziale 6.3.3.1. który ma tytuł "Receptor C1q dla fagocytozy" może lepiej napisać "Receptor C1q uczestniczący w procesie fagocytozy". Na stronie 33 są "szczątki komórek" choć lepiej napisać "fragmenty komórek".

Niechętnie brzmi zdanie "zaobserwowali aktywację TLR4 poprzez dodanie SP-A".

Nadrzędny cel pracy jak też cele szczegółowe zostały jasno sformułowane. Obszerny rozdział Materiał i Metody zawiera dokładne informacje o przygotowaniu wysięków opłucnowych do badań. Niestety, w części Materiał brakuje informacji o pacjentach od których pozyskano materiał, brak kryteriów włączenia i wyłączenia, brak informacji o stężeniu białka SP-A. Natomiast bardzo szczegółowo i starannie opisano i zilustrowano procedurę pozyskania białka SP-A z wysięku. Zastanawiam się czy zamiast "oczyszczanie białka SP-A" nie lepiej napisać "izolacja białka SP-A". Ryciny, które ilustrują otrzymane produkty są dobrej jakości. Niechętnie brzmi na str. 47 zwrot "białko zostało zatężone". Należy podkreślić, że użyte do badań komercyjne linie komórkowe raka płuca A549 oraz Calu-3 zostały starannie opisane i pokazane na zdjęciach. Natomiast nigdzie nie został wyjaśniony roboczy skrót "H + E" widoczny pod niektórymi zdjęciami (str. 49). Informacje dotyczące trzeciej linii komórkowej CCD-39Lu są dość skąpe. W rozdziale Metody nie znalazłam również informacji jak przygotowano różne stężenia białka SP-A.

Ponadto w tabeli 2 na str. 52 zamiast nazwy produktu podana jest nazwa firmy, (Calbiochem). A w schematach hodowli komórkowych, które przedstawiono w tabelach nr 3 i 4 brak informacji o tym co kryje się pod hasłem kontrola. Co na stronie 55 znaczy "powierzchniowe barwienie antygenów"? W rozdziale tym Doktorantka nie wyjaśnia również dlaczego badania molekularne wykonano tylko z użyciem komórek linii A549 raka płuca?

Mimo uwag poczynionych w tym rozdziale Materiał i Metody, uważam, że Doktorantka wykorzystwała do realizacji pracy różnorodny warsztat naukowy, trafnie dobrała metody i narzędzia badawcze, a ponadto umiejętnie je zastosowała do osiągnięcia wytyczonych celów.

Rozdział Wyniki badań stanowi dużą część pracy bo aż 40 stron. Interesujące wyniki Doktorantka przedstawiła w formie opisowej oraz w 6 czytelnych tabelach i na 39 starannie wykonanych rycinach. Dobrym rozwiązaniem, pomocnym do wyciągania wniosków z prowadzonych badań, jest podsumowanie wyników dotyczących wpływu białka SP-A na cykl komórkowy oraz ekspresję receptorów TLR w każdej badanej linii komórek raka płuca osobno. W przypadku linii A549, Doktorantka dowiodła, że białko SP-A powoduje nasilający się z czasem efekt zwiększania się liczby komórek martwych kosztem komórek w fazie G2/M. Natomiast w przypadku linii Calu-3 wzrost liczby komórek martwych następował kosztem obniżenia odsetka komórek w fazie G0/G1. A w hodowli linii CCD-39Lu zwiększał się odsetek w fazie G0/G1 kosztem komórek w fazie S. Natomiast wpływ białka SP-A na aktywność receptorów TLR był następujący. W hodowli komórek A549 oraz Calu-3 białko SP-A powodowało wzrost ekspresji receptora TLR4, natomiast w hodowli komórek linii CCD-39Lu ekspresja była niezależna od stężenia białka SP-A. W rozdziale Wyniki dużo miejsca zajmuje opis aktywności następujących genów: *PBGD*, *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *BAX*, *BCL-2*, *TTF-1*, *IL-6*, *INF-γ*, *TNF-α*. Należy podkreślić, że otrzymane wyniki poza aspektem poznawczym mogą być pomocne w opracowaniu nowych leków lub nowej strategii leczenia raka płuca.

Dyskusja prowadzona jest w sposób, który wskazuje na dobre rozeznanie Doktorantki w najnowszym piśmiennictwie. Pisząc dyskusję dowiodła, że posiada także umiejętność krytycznej oceny wyników swoich badań, a ponadto potrafi wyciągać z nich poprawne wnioski. Pracę uzupełnia spis tabel i rycin. Piśmiennictwo, które liczy 105 pozycji zostało starannie dobrane i w całości poprawnie zacytowane. Pracę kończy streszczenie w języku polskim i angielskim.

Jak już wcześniej podkreśliłam, praca doktorska Pani mgr Małgorzaty Łagiedo - Żelazowskiej dobrze wpisuje się w badania których celem jest



poszukiwanie możliwości opracowania terapii trudnych stanów klinicznych takich jak rak płuca. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Małgorzaty Łagiedo - Żelazowskiej ma wysoką wartość naukową. Poczynione przez Recenzenta uwagi w żaden sposób nie umniejszają wartości tej rozprawy, a przy redagowaniu pracy do druku są łatwe do wyeliminowania. Rozprawa doktorska Pani mgr Małgorzaty Łagiedo - Żelazowskiej odpowiada warunkom określonym w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14.03.2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Załącznik do obwieszczenia Marszałka Sejmu RP z dnia 2 grudnia 2014 roku - Dz. U. poz. 1852). Biorąc to wszystko pod uwagę zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Małgorzaty Łagiedo - Żelazowskiej do dalszych etapów postępowania o uzyskanie stopnia doktora.

Sosnowiec, 07.01.2020 r

Prof. dr hab. n. med. Zdzisława Kondera-Anasz