

Prof. dr hab. Jerzy Silberring  
Katedra Biochemii i Neurobiologii  
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki  
Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani Mgr Urszuli Jankowskiej  
pt. *"Badania proteomiczne w aspekcie działania leków przeciwpsychotycznych w komórkach PC12"*

Dysertacja, przygotowana pod kierunkiem dwóch Promotorów, Pani Prof. dr hab. Marty Dziejickiej Wasylewskiej oraz Pani Dr Sylwii Kędrackiej-Krok, dotyczy identyfikacji zmian wewnątrzkomórkowych zachodzących pod wpływem leków przeciwpsychotycznych: haloperidolu, risperidonu i klozapiny. Leki te wykazują odmienne mechanizmy działania oraz różną toksyczność, stąd szczegółowe poznanie ich efektów na poziomie molekularnym może przyczynić się do lepszej oceny ich skuteczności, co przekłada się na bardziej efektywną i bezpieczną terapię. W poszukiwaniu ew. podobieństw i różnic w mechanizmach działania tych leków, w swojej pracy Doktorantka zastosowała strategię proteomiczną z wykorzystaniem dwóch technik znakowania różnicowego: DIGE i iTRAQ.

Celem projektu Pani Mgr. U. Jankowskiej było określenie zmian w proteomie linii komórkowej PC12 inkubowanych w obecności 3 neuroleptyków, w dwóch punktach czasowych, oraz określenie wspólnych ścieżek przekazywania sygnału dla wszystkich stosowanych związków. Ze względu na działanie klozapiny w wybranych przypadkach lekooporności na inne neuroleptyki, dodatkowo skupiono się na identyfikacji białek, przyczyniających się do wywoływania skutków ubocznych wywoływanych przez ten lek oraz rozpoznaniu szlaków sygnalizacyjnych, zaangażowanych w jego efekty.

Rozprawa, wraz z Dodatkiem, liczy 161 stron, zawiera adekwatną liczbę rycin i tabel oraz obszerną część literaturową. Na uwagę zasługuje bardzo dobry wstęp teoretyczny, opisujący aktualną wiedzę nt. schizofrenii i potencjalnych mechanizmów zaangażowanych w rozwój tej choroby. Praca napisana jest dobrym, zrozumiałym językiem. Dysertacja jest też dobrze udokumentowana pod względem eksperymentalnym a Doktorantka posiada dobrą wiedzę z zakresu techniki proteomicznej oraz spektrometrii mas, ze szczególnym uwzględnieniem metod znakowania, wymagających dużego nakładu pracy.

Do najważniejszych osiągnięć Pani Mgr. U. Jankowskiej niewątpliwie należą:

- identyfikacja białek zmieniających ekspresję pod wpływem działania neuroleptyków;
- identyfikacja szlaków sygnalizacyjnych zmieniających się pod wpływem zastosowanych neuroleptyków, w szczególności klozapiny;
- praca może mieć w przyszłości potencjalnie zastosowanie praktyczne w doborze indywidualnej terapii schizofrenii.

Rozwiązywany problem naukowy ma istotne znaczenie poznawcze i jest nowatorski w świetle dostępnej literatury naukowej.

Pani Mgr Jankowska nie ustrzegła się pewnych nieścisłości, które z obowiązku recenzenta, wymienione są poniżej:

- Str. 3 - zwrot "*badania na aparaturze*" proponuję zastąpić określeniem "*badania z zastosowaniem aparatury*"
- Str. 49 - nie podano uzasadnienia, dlaczego zastosowano linię komórkową PC12, wywodzącą się z nadnerczy, zamiast np. hodowlę neuronów, dostępnych w laboratorium? Linia PC12 spełnia kryteria jedynie w określonych warunkach hodowli.
- Str. 49 - na jakiej podstawie przyjęto stężenia leków dodawanych do hodowli?
- Str. 72 - w Tab. 5.2. zsumowano białka różnicujące, uzyskane w wyniku zastosowania obu metod analitycznych DIGE i iTRAQ, nawet nie rozdzielając ich na up- i down-regulowane. Czy istniały jakieś powody do utworzenia takiego zbioru wyników?
- Str. 73 - w Tab. 5.3 zamieszczono listę zidentyfikowanych białek oraz podano względne ich poziomy w stosunku do kontroli. Dla większości białek krotność ta zawiera się w przedziale 1.2 - 1.4. Jaki udział ma w tych wynikach błąd metody?
- Str. 73 - Lista białek w Tabeli 5.3. powinna obejmować też wyniki identyfikacji, t.zn. wartości Mowse score, odchylenie od teoretycznej wartości m/z oraz liczbę zidentyfikowanych peptydów.

Oczekuję w tym zakresie interesującej dyskusji z Doktorantką.

Doktorantka nie zamieściła w rozprawie odrębnej listy swoich publikacji i wystąpień konferencyjnych. W tej sytuacji, na podstawie bazy literaturowej PubMed, mogę jedynie oszacować, że dorobek Pani Mgr Urszuli Jankowskiej obejmuje co najmniej 12 prac, w tym, m.in. w J. Neurochem., PlosOne, J. Proteomics. Dodatkowo należy wymienić kierownictwo grantu NCN "*Description of the molecular impact of clozapine on PC12 cells - proteomic study*". Jest to dorobek solidny i wskazuje jednoznacznie na bardzo dobre kwalifikacje Doktorantki. W związku z tym zastanawiam się, dlaczego młoda Uczona, z przyzwoitym dorobkiem, traci czas na przygotowanie obszernej dysertacji, zamiast bronić się w "nowym" systemie i skupić na dalszym rozwoju naukowym?

Stwierdzam, że przedłożona rozprawa spełnia wszelkie wymogi zwyczajowe, stawiane pracom doktorskim i stanowi nowość naukową. Spełnione są również formalne wymogi Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003r. (Dz. U. z 2003 nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami Dz. U. z 2005r. nr 164, poz. 1365, Dz. U. z 2011r. nr 84, poz. 455). Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani Mgr Urszuli Jankowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

  
Prof. dr hab. Jerzy Silberring

Kraków 11.07.2016.