

Recenzja pracy doktorskiej mgr Agaty Szade pt. „Rola oksygenazy hemowej-1 w raku płaskonabłonkowym: wpływ na karcynogenezę, wzrost nowotworu oraz mobilizację komórek układu immunologicznego”

Rozprawa liczy 160 stron, w rozdziale piśmiennictwo zawiera 280 pozycji, ponadto 67 rycin i 6 tabel. Praca napisana jest w języku angielskim, poprzedzona spisem treści, zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz ważniejszych skrótów używanych w pracy. Układ rozdziałów oraz opracowanie graficzne są przejrzyste i starannie zredagowane, zgodnie z ogólnie przyjętymi wymogami prac doktorskich. Cytowane piśmiennictwo jest aktualne i adekwatne do treści. Znacząca część ujętych referencji (>30%) opublikowana została w ciągu ostatnich pięciu lat.

Oksygenaza hemowa (HO) została po raz pierwszy opisana prawie 50 lat temu jako enzym katalizujący utlenienie hemu do bilirubiny. Produkty tej reakcji, tj. dwuwartościowe jony żelaza, tlenek węgla oraz biliwerdyna IX α , redukowana następnie do bilirubiny, jak wkrótce wykazano, wywierają duży wpływ na homeostazę tkankową. Odkrycie lizoform HO, w tym indukowanej HO-1, ukierunkowało prace badawcze m.in. na identyfikację czynników fizjologicznych i patofizjologicznych warunkujących aktywność enzymu i jego szczegółową rolę na poziomie komórki. Duże zainteresowanie wzbudza rola HO w powstawaniu i rozwoju nowotworów, a także wszystkich towarzyszących zjawisk zachodzących w organizmie podczas tych procesów. Nie dziwi zatem fakt, iż dokładne poznanie i opisanie procesów związanych z patofizjologią nowotworzenia w kontekście potencjalnej roli HO jest celem prac wiodących zespołów naukowo-badawczych na świecie. Szczególny wkład w tym obszarze wniosły badania prowadzone przez zespół p. prof. dr hab. Józefa Dulaka i p. prof. dr hab. Alicji Józkowicz z Zakładu Biotechnologii Medycznej UJ w Krakowie.

Dotychczas zdefiniowano wiele aspektów patofizjologicznych oraz molekularnych leżących u podstaw nowotworzenia z komórek nabłonka płaskiego. Nie jest jednak do końca jasne jaki jest rzeczywisty wpływ HO-1 na procesy związane z indukcją i progresją raka płaskonabłonkowego, także te związane immunologiczną odpowiedzią

antynowotworową organizmu. Zadanie, jakiego podjęła się Doktorantka, ukazuje się zatem jako bardzo ważne i aktualne.

We wstępie liczącym 36 stron mgr Agata Szade komunikatywnie przedstawiła definicję, charakterystykę i ogólną patofizjologię raków płaskonabłonkowych. Opisała w sposób przejrzysty i kompleksowy rolę enzymu oksygenazy hemowej-1 (HO-1) w organizmie, skupiając się także na szczegółowych zagadnieniach bezpośrednio związanych z jego funkcją regulacyjną na poziomie tkankowym, komórkowym, biochemicznym i molekularnym. Odniosła się również do znaczenia HO-1 w procesie karcynogenezy oraz rozwoju nowotworów. Interesującym zagadnieniem poruszonym we wstępie jest również syntetyczny opis najważniejszych aspektów związanych z procesem mobilizacji komórek szpikowych do krwi obwodowej. Wstęp napisany jest bardzo ładnym językiem, szczegółowo i przejrzysto, umożliwiając czytającemu zrozumienie istoty tematyki pracy. Na podkreślenie zasługuje fakt, że obszernie fragmenty wstępu zostały opublikowane w dwóch artykułach przeglądowych, w których mgr Agata Szade jest pierwszą autorką.

Swoje badania Doktorantka przeprowadziła w warunkach *in vivo* z zastosowaniem ustalonych linii komórkowych raka płaskonabłonkowego z prawidłową oraz nadmierną ekspresją HO-1, myszy transgenicznych o różnym poziomie ekspresji HO-1 oraz myszy typu dzikiego. Na ich przeprowadzenie uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Bioetycznej. Eseje hodowlane, funkcjonalne, badania morfologiczne, laboratoryjne i molekularne przeprowadzono z zastosowaniem szerokiej gamy bardzo nowoczesnych metod, m.in. immunohistochemicznych, cytometrycznych, obrazowych, immunoenzymatycznych, migracyjnych, qRT-PCR, Western Blot. Tak szeroki zakres przeprowadzonych badań świadczy o profesjonalnym przygotowaniu Doktorantki, zarówno teoretycznym jak i manualnym. Starannie bowiem weryfikowano wszystkie etapy procedury metodycznej i analitycznej w celu osiągnięcia wiarygodnych wyników. Wybrane przez Doktorantkę metody w pełni spełniają kryteria adekwatnie dobranych nowoczesnych narzędzi badawczych do realizacji postawionych sobie celów.

Wyniki przedstawiono w postaci szczegółowych rycin oraz dokładnie omówiono w tekście. Należy podkreślić bogatą i bardzo wartościową ilustrację morfologiczną, cytometryczną i histograficzną dotyczącą każdego etapu badań. Następnie w dyskusji porównano otrzymane wyniki z tymi, które do tej pory uzyskano w innych modelach badawczych. Rozdział ten, napisany w sposób interesujący i merytorycznie dojrzały, logicznie uzasadnia oraz interpretuje każdy etap podjętych analiz.

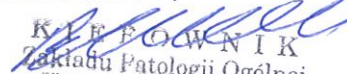
Na podstawie bardzo dobrze zaprojektowanych i niezwykle starannie wykonanych badań Doktorantka wykazała, że zróżnicowana ekspresja HO-1 może mieć

uchwytny wpływ na powstawanie i rozwój raków płaskonabłonkowych, ekspresję białek regulujących oraz infiltrację masy nowotworowej przez komórki układu odpornościowego organizmu. Stwierdziła ponadto, że protoporfiryna kobaltu IX (CoPP) efektywnie wywołuje mobilizację komórek krwiotwórczych ze szpiku do krążenia systemowego działając niezależnie od aktywności enzymatycznej HO-1.

Reasumując, jest to niezwykle interesująca i bardzo dobrze wykonana praca badawcza wnosząca nowe, ważne obserwacje dla naukowców zajmujących się problematyką powstawania, rozwoju i patofizjologii nowotworów, w szczególnym odniesieniu do raków płaskonabłonkowych. Praca wykonana jest z użyciem dobrze wystandaryzowanych metod badawczych, gwarantujących rzetelność przedstawionych wyników. W związku z powyższym Panu Dziekanowi oraz Wysokiej Radzie Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ przedkładam wniosek o dopuszczenie mgr Agaty Szade do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wysoko oceniana przeze mnie rozprawa wyjaśnia w dużej mierze rolę aktywności enzymu HO-1 w procesach związanych z patofizjologią raków płaskonabłonkowych w adekwatnie dobranych modelach badawczych. Biorąc pod uwagę istotę problemu oraz fakt, iż uzyskane wyniki mogą być w przyszłości wykorzystane w praktyce klinicznej ośmielam się prosić Wysoką Radę Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ o wyróżnienie prezentowanej rozprawy doktorskiej.

Z poważaniem,


KLEPOWNIK
Zakład Patologii Ogólnej
Katedra Fizjologii

Bogusław Machaliński

prof. dr hab. n. med. Bogusław Machaliński

11 STY. 2016

