



dr hab. Magdalena Król, prof. nadzw.
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 25.01.2018 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr. Łukasza Turczyka

pt. „Analiza funkcji i mechanizmu działania FGFR2 w raku gruczołu piersiowego”

Celem przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej było zbadanie zależności poziomu białek CD151 i FGFR2, analiza roli CD151 w regulacji ekspresji genu i funkcji FGFR2, a także określenie roli FGFR2 w regulacji aktywacji receptora estrogenowego i reakcji komórek raka piersi na tamoksyfen. Tematyka pracy jest interesująca i dotyczy obecnie intensywnie badanej roli mikrośrodowiska nowotworowego na rozwój guza. Autor pracy skupił się na badaniu roli czynników wzrostu fibroblastów pochodzących ze zrębu guza na wzrost komórek raka piersi oraz ich lekowrażliwość.

Zastrzeżenie budzi tytuł pracy „Analiza funkcji i mechanizmu działania FGFR2 w raku gruczołu piersiowego” ponieważ Autor nie badał tylko komórek nowotworowych, ale badał też komórki nabłonkowe piersi, zatem zakres badawczy był szerszy aniżeli mógłby sugerować to tytuł, nawet jeśli komórki nabłonkowe stanowiły tutaj tylko kontrolę.

We wstępie pracy Autor bardzo dokładnie i w przystępny sposób opisuje klasyfikację raka piersi, a także mikrośrodowisko nowotworu. Autor opisuje także znaczenie procesów zachodzących w mikrośrodowisku guza dla progresji i prognozy raka piersi skupiając się głównie na czynnikach wzrostu fibroblastów i ich receptorów. Doktorant dokładnie opisuje także rolę tetraspanin i estrogenów w progresji nowotworów. Następnie Autor wyjaśnia cel naukowy pracy polegający na zgłębieniu wiedzy na temat procesów odpowiadających za regulację FGFR2 i jego znaczenie w terapii raka piersi oraz opisuje kroki, jakie podjęto aby ten cel osiągnąć.

Kolejny rozdział stanowi opis materiałów i metod stosowanych w pracy. Swoboda w opisie stosowanych technik badawczych świadczy o bardzo dobrym ich opanowaniu przez Doktoranta. Dobrą praktyką jest także wskazywanie osób, które pomagały Doktorantowi przy wykonywaniu



opisywanych eksperymentów, co pozwala na łatwą ocenę zakresu samodzielności Doktoranta. W opisie materiałów i metod zabrakło mi jednak dwóch informacji:

1. Opisu procedur badania komórek na obecność mykoplazmy oraz informacji czy badane linie były wolne od zakażenia tym drobnoustrojem.
2. Opisu zastosowanych w pracy analiz statystycznych i wykorzystanych w tym celu programów statystycznych.

Kolejny rozdział zawiera opis uzyskanych wyników. Autor wykazał, że w liniach komórkowych raka piersi pozbawionych ekspresji tetraspaniny CD151 wzrasta poziom białka i mRNA dla FGFR2 co koreluje z lepszą reakcją komórek na stymulację czynnikami wzrostu fibroblastów. Aktywność ta wymaga oddziaływania FGFR2 z integrynymi i zaangażowania kinazy p38.

Mgr Łukasz Turczyk wykazał także, że czynniki wzrostu fibroblastów promują wzrost komórek raka piersi w obecności tamoksyfenu wskazując kompleksową regulację funkcji receptora estrogenowego poprzez FGFR2. Oryginalnym dokonaniem Doktoranta jest wykazanie regulacji ekspresji i funkcji FGFR2 poprzez CD151 oraz zaburzenie reakcji na leczenie tamoksyfenem zależne od FGFR2.

Choć uzyskane wyniki są interesujące i stanowią ważny wkład Doktoranta w rozwój nauki, to zabrakło mi kilku kluczowych elementów, które są niezbędne dla prawidłowej interpretacji uzyskanych danych:

1. Wyraźnie zabrakło informacji na temat zastosowanych testów statystycznych (brak ich opisów zarówno w tekście, jak i w podpisach rycin) – w rozdziale „Materiały i Metody” Autor pisze, że stosował test t-Studenta, jednak nie w każdej wykonywanej analizie test ten powinien być stosowany. Na wielu przedstawionych wykresach brakuje opisu istotności statystycznej, nie wiadomo właściwie czy różnice są nieistotne czy nie badano tej istotności.
2. W eksperymentach Western blot brakuje danych z pomiarów densytometrycznych. Szczególnie istotne wydaje się to w przypadkach bardzo subtelnych różnic (np. Ryc. 1.4.1 - Autor pisze o różnicach w ekspresji p38 czego ja na przedstawionym zdjęciu nie widzę) – warto byłoby dołączyć analizę densytometryczną popartą analizą statystyczną, jako faktyczny dowód występowania różnic.
3. Autor badał wielkość kolonii komórkowych i na tej podstawie wnioskował o wzroście komórek – nie wiadomo jednak czy faktycznie zwiększała się liczba komórek czy może komórki stawały się większe tj. zmieniała się ich morfologia, a może jedno i drugie? Moim zdaniem oprócz badania wielkości kolonii komórkowych należało policzyć też liczbę komórek.



4. Co więcej, oprócz badania rozmiaru kolonii komórkowych warto by było policzyć także liczbę tych kolonii np. na dołek hodowlany.
5. W przypadku hodowli 8-dniowych interesujące jest, jak zmieniał się wygląd tych hodowli w ciągu kolejnych dni (np. Ryc. 1.3.1.). Z kolei kolonie prezentowane na Ryc. 2.1.2 moim zdaniem warto by było obserwować dłużej, bowiem te traktowane FGF7 i OHT+FGF7 nie wyglądają zdrowo i ciekawi mnie co się z nimi dalej dzieło.
6. Autor traktował komórki pożywką kondycjonowaną fibroblastami towarzyszącymi nowotworowi (CAF) – warto by było po pierwsze przybliżyć nieco charakterystykę tej konkretnej linii komórkowej, a po drugie aż się prosi by sprawdzić np. metodą Western blot czy stosowane w tych doświadczeniach CAF wydzielają do pożywki hodowlanej (w postaci exosomów lub wolnej) czynniki wzrostu fibroblastów, jeśli tak – to które z nich i w jakiej ilości. Zabrakło mi też informacji w jakim stosunku mieszano pożywkę kondycjonowaną CAF z pożywką hodowlaną i czy badano różne stężenia.

Rozdział „Wyniki” zamyka podsumowanie zawierające 7 wniosków końcowych jasno wynikających z pracy i dojrzała dyskusja uzyskanych wyników na tle danych literaturowych. Na końcu zawarto bogaty spis piśmiennictwa zawierający głównie prace opublikowane w ostatnich 10 latach.

Ogólnie układ pracy jest logiczny i przejrzysty. Układ graficzny pracy jest elegancki. Zamieszczone ryciny i tabele są przejrzyste i czytelne. Całość pracy jest napisana poprawnym językiem, bez nadużywania zwrotów anglojęzycznych lub żargonu laboratoryjnego, co jest dość często spotykane w pracach z zakresu biotechnologii.

Reasumując, praca charakteryzuje się dużą ilością ciekawych wyników, a sposób ich przedstawienia świadczy o swobodzie poruszania się w zagadnieniach naukowych i umiejętności rozwiązywania problemów doświadczalnych. Wnioski wynikające z rozprawy stanowią oryginalny wkład Autora w rozwój dyscypliny naukowej.

W świetle powyższych stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pana mgr Łukasza Turczyka spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim (zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki; Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i stawiam wniosek o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Magdalena Król, prof. nadzw.