UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI
w Olsztynie
COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI
Katedra Farmakologii i Toksykologii
10-082 Olsztyn, al. Warszawska 30, tel. 089 524-61-88, tel/fax 089 524-55-22
e-mail: farmakologiamed@uwm.edu.pl

dr hab. n. med. Michał S. Majewski, prof. UWM
Kierownik Katedry Farmakologii i Toksykologii
Wydziału Lekarskiego
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
michal.majewski@uwm.edu.pl

Olsztyn, 31.10.2022 rok

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Szatkowskiej, pt.: „Paralogi RAD51 w naprawie międzyniciowych wiązań poprzecznych w komórkach raka trzonu macicy"

Rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Szatkowskiej jest skonstruowana w sposób klasyczny. Składają się na nią: Wstęp, Uzasadnienie podjęcia tematu, Cel pracy, Materiały i Metody, Wyniki waz z podsumowaniem, Dyskusja wraz z podsumowaniem i Wnioski. Ponadto, rozprawa zawiera listę używanych skrótów i skrótowców, informacje wprowadzające, streszczenie, ang. abstract, dorobek naukowy, literaturę, spis tabel i spis rycin.

W liczącym 30 stron Wstępie, Doktorantka wprowadza czytelnika w zagadnienie raka błony śluzowej trzonu macicy, oraz opisuje związki platyny jako leki przeciwnowotworowe w odniesieniu do literatury światowej (w całej pracy użyto 360 aktualnych pozycji literaturowych). Ponadto autorka przybliża kwestię znaczenia naprawy miedzyniciowych wiązań poprzecznych DNA oraz rolę paralogów RAD51 w tej naprawie. Opisane zostało także zastosowanie inhibitorów drobnocząsteczkowych w terapii przeciwnowotworowej opartej na efekcie syntetycznej letalności i zastosowanie mikro RNA w terapii przeciwnowotworowej, opartej na efekcie syntetycznej letalności. Bardzo starannie omówiony jest mechanizm obu zjawisk, w tym szlaki sygnałowe, klasyfikacja zaawansowania klinicznego raka błony śluzowej trzonu macicy oraz budowa działanie ciplatyny. Szczegółowa i dobrze poprowadzona oś narracyjna w tej części rozprawy jest wzbogacona w 10 rycin i 5 tabel.

Podjęta tematyka badań w niniejszej pracy mieści się w zakresie badań podstawowych i ma na celu zdobycie nowej wiedzy na temat znaczenia paralogów RAD51 i miRNA, w efektywności mechanizmów naprawy międzyniciowych wiązań poprzecznych, po zastosowaniu związku indukującego wiązania poprzeczne – cisplatyny. Wybór paralogów RAD51 do badań jest uzasadniony brakiem doniesień literaturowych, wskazujących na ich znaczenie w mechanizmach oporności komórek raka błony śluzowej trzonu macicy na działanie cisplatyny.

Kolejną częścią rozprawy są Materiały i Metody badawcze (27 stron wzbogacone o 13 rycin i 6 tabel) oraz Wyniki (17 stron wzbogacone o 12 rycin).
W części Materiały i Metody Autorka przedstawiła użyte odczynniki, plan badań, schematy postepowania eksperymentalnego w tym opisała analizę cytotoksyczności związków – metoda fluorescencyjna, analizę międzyniciowych wiązań poprzecznych – test kometowy w wersji alkalicznej, analizę ekspresji genów – metoda PT-PCR, analizę ekspresji miRNA – metoda PT-PCR, analizę apoptozy – cytometria przepływowa, analizę uszkodzeń DNA po inhibicji miRNA – test kometowy w wersji alkalicznej, analizę fluorescencyjną białek – cytometria przepływowa i mikroskopia konfokalna. Opisane także zostały szczegółowo linie komórkowe Ishikawa i HEC-1-A, warunki hodowli komórek, oznaczenie żywotności komórek, wyciszenie ekspresji genów SWSAPA i RAD51C i miRNA, izolacja RNA, analiza ekspresji, wybór mikro RNA. Autorka przedstawiła analizę międzyniciowych wiązań poprzecznych po wyciszeniu SWSAP1 i po inhibicji miRNA, test kometowy w wersji alkalicznej, barwienie immunofluorescencyjne, badanie apoptozy, oraz przeprowadziła analizę statystyczną. Metody badawcze są prawidłowe i stanowią o jakości pracy.
W części Wyniki, Autorka zawarła cytotoksyczność cisplatyny i NU7026, cytotoksyczność po wyciszeniu ekspresji genów RAD51C i SWSAP1, lokalizację komórkową RAD51 i SWSAP1, poziom białek po działaniu CDDP, poziom uszkodzenia oraz naprawy międzyniciowych wiązań poprzecznych. Opisała bardzo szczegółowo wyniki ekspresji RAD51C i SWSAP1 po działaniu CDDP, wyniki ekspresji genów naprawy DNA, po wyciszeniu RAD51C i SWSAP1, wyniki ekspresji mir-205-5p, mir-125a-5p, mir-125b-5p, wyniki z analizy uszkodzeń DNA i apoptozy po inhibicji miR-125a-5p i mir-205-5p.

Konkludując, paralogi RAD51 uczestniczą w początkowych etapach naprawy międzyniciowych wiązań poprzecznych w DAN. Wyciszenie genu kodującego białko SWSAP1 i inhibicja miR-125a-5p, który reguluje ekspresję SWSAP1, stały się właściwym podejściem badawczym, prowadzącym do uwrażliwiania komórek opornych na działanie

cisplatyny poprzez zaburzenie efektywności działania mechanizmów naprawy międzyniciowych wiązań poprzecznych przed lub na etapie nacinania.

Przedstawiona rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz prezentuje wiedzę teoretyczną Autorki w dyscyplinie nauki biologiczne, co stanowi o umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Uwagi i komentarze

W sekcji poświęconej analizie statystycznej, Autorka opisała, że różnice między grupami eksperymentalnymi określono przy pomocy testu t-studenta, nie podaje natomiast czy był to test dla zmiennych powiązanych czy niepowiązanych, co związane jest z rozkładem prób – można tylko zakładać, że jest to rozkład normalny. Chciałbym dowiedzieć się czy uzyskane różnice były też analizowane testami o wyższej sile (odpowiednio testem Wilcoxona lub Mann-Whitneya), a jeśli tak, to jakie były wyniki tych analiz?

Wniosek końcowy: na podstawie analizy przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej pani mgr Magdaleny Szatkowskiej stwierdzam, że praca ta jest dziełem o wysokiej wartości naukowo-poznawczej, przygotowanej w oparciu o warsztat badawczy na światowym poziomie. Z całą pewnością, przedstawione mi do oceny działo spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13. Ust. 1 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.), w związku z czym wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o przyjęciu rozprawy i dopuszczenie mgr Magdaleny Szatkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Michał Majewski

KIEROWNIK
Katedry Farmakologii i Toksykologii
Wydziału Lekarskiego
dr hab. n. med. Michał S. Majewski, prof. UWM