

Rzeszów, 10 lutego 2021 r.

Dr hab. n med. Joanna Niemiec, profesor UR
Instytut Nauk Medycznych
Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego
Aleja Majora Wacława Kopisto 2a
35-315 Rzeszów

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr Igi Jacewicz

Pt.: „Rola białka BRM, podjednostki ATPazowej kompleksu remodelującego chromatynę typu SWI/SNF, w przejściu epitelialno-mezenchymalnym w potrójnie ujemnym raku piersi”

Przedstawiona do recenzji praca została przygotowana w formie monografii. Stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego jakim jest rola białka BRM, a także podjednostki ATPazowej kompleksu remodelującego chromatynę typu SWI/SNF, w przejściu epitelialno-mezenchymalnym w potrójnie ujemnym raku piersi. Temat ten podjęto ze względu na skąpą liczbę wyników badań naukowych i niespójności danych literaturowych, a także potencjalne praktyczne implikacje uzyskanych wyników. Należy tu podkreślić, że badania dotyczące biologii potrójnie ujemnego raka piersi są szczególnie istotne, gdyż wyniki leczenia tego podtypu molekularnego są nadal niezadowalające i jak dotąd nie znaleziono punktów uchwytu dla terapii, która skutkowałaby ich poprawą. Uważam, że przeprowadzona analiza, znacząco wzbogaca dorobek w dziedzinie biologii medycznej.

Praca została wykonana pod kierunkiem dr hab. n. med. Elżbiety Sarnowskiej, prof. NIO-PIB, w Zakładzie Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Narodowego Instytutu Onkologii i była finansowana ze środków przyznanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego¹, Narodowe Centrum Nauki², a także ze środków przyznanych na działalność statutową NIO. W związku z powyższym podejrzewam, że na wykonanie badań

¹ Diamentowy Grant nr 0229/DIA/2015/44

² grant nr 2016/23/N/NZ1/01138



opisanych w rozprawie doktorskiej uzyskano zgodę stosownej komisji bioetycznej, niestety w treści pracy nie znalazłam informacji na ten temat. Jeśli taka zgoda istnieje, sugerowałabym dołączenie jej kopii do dokumentacji przewodu doktorskiego.

Cele pracy sformułowano bardzo poprawnie. Tytuł rozprawy doktorskiej odzwierciedla cele pracy, zaś część eksperymentalna została zaplanowana w sposób, który pozwala na confirmację lub falsyfikację postawionej hipotezy badawczej. Na wyróżnienie zasługuje zarówno projekt badania, jak i biegłość w posługiwaniu się i wnioskowaniu na podstawie wyników badań z zastosowaniem wielu różnorodnych i nowoczesnych technik hodowli komórkowych, biologii molekularnej, technik histologicznych oraz mikroskopowych. W mojej opinii, poziom prac badawczych i standardy opracowania wyników, zaprezentowane w rozprawie doktorskiej, znacząco przewyższają poziom przeciętnych prac doktorskich.

Zarówno pod względem językowym i formalnym praca jest na ponadprzeciętnym poziomie. Nie udało mi się znaleźć błędów stylistycznych, ortograficznych, logicznych ani znaczących błędów formatowania tekstu. Na pochwałę zasługuje estetyka przygotowania pracy i dbałość o detale. Mgr Iga Jacewicz posiada, rzadko obecnie spotykaną, umiejętność posługiwania się krótkimi i zrozumiałymi zdaniami oraz niezwykle logicznego porządkowania prezentowanych w pracy treści.

„Wstęp” pracy spełnia założenia, które przypisano, tej części pracy i jednocześnie przekonuje mnie, że Doktorantka posiada aktualną ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie biologii medycznej i pogłębioną wiedzę na temat epidemiologii, klasyfikacji i biologii potrójnie ujemnego raka piersi, a także roli procesu przejścia epitelialno-mezenchymalnego oraz roli kompleksu SWI/SNF w kancerogenezie i progresji raka piersi. Rozdział ten zawiera wszystkie informacje niezbędne do zrozumienia znaczenia poznawczego i praktycznego jakie dla nauki ma odpowiedź na pytania które sformułowano w rozdziale „Cele pracy”³. Dodatkowo na pochwałę zasługuje sposób przekazu i logiczna konstrukcja „Wstępu”. Każdy z jego trzech podrozdziałów, rozpoczyna się od informacji ogólnych, a kończy tym, co będzie przedmiotem dociekań naukowych Doktorantki. Jest to najpoprawniejsza konstrukcja tej części pracy naukowej. Proporcja ilości tekstu i liczby rycin we „Wstępie” doskonale

³ (1): czy zaburzenia ilości białka BRM mogą wpływać na cechy agresywności komórek raka piersi ze szczególnym uwzględnieniem procesu przejścia epitelialno-mezenchymalnego, (2): czy kompleks SWI/SNF może współdziałać z czynnikami transkrypcyjnymi aktywującymi EMT, w szczególności białkami z rodziny SNAIL, oraz czy stosowanie inhibitorów proteasomu może wpłynąć na przeżywalność komórek ze zmienionym poziomem białka BRM

koresponduje z ich ilością/liczbą w innych częściach pracy. Wszystko o czym tu wspomina jest dowodem na biegłość Doktorantki w posługiwaniu się danymi literaturowymi i argumentowaniu słuszności podjętych celów badawczych.

W swoich rozważaniach prowadzonych we „Wstępie” i w „Dyskusji”, Doktorantka odwołała się do 302 pozycji piśmiennictwa. Dobór literatury jest prawidłowy, zaś formatowanie rozdziału „Piśmiennictwo” spójne i poprawne.

Część eksperymentalną przeprowadzono z wykorzystaniem hodowli komórkowych i stosownych testów przeprowadzonych na tych hodowlach⁴, licznych technik biologii molekularnej⁵, technik histologicznych⁶, mikroskopowych⁷, oraz licznych analiz bioinformatycznych. Wdrożenie tak skomplikowanej metodologii było celowe, gdyż każda z nich przyniosła częściową odpowiedź na postawione pytania badawcze. W tym miejscu pragnę jeszcze raz podkreślić, że planowanie eksperymentów z użyciem tak wielu metod eksperymentalnych, biegłe posługiwanie tymi metodami, a także umiejętność ich czytelnego opisanie i wnioskowanie na podstawie uzyskanych z ich użyciem wyników, jest dowodem nieprzeciętnego doświadczenia i talentu badawczego Pani mgr Igi Jacewicz, który moim zdaniem wykracza poza wymagania stawiane doktorantom. Konstrukcja rozdziałów „Materiały” i „Metody” jest bardzo poprawna, tak samo jak liczba zastosowanych tam rycin i tabel. „Być może drobnym uchybieniem pracy jest brak podrozdziału „Analiza statystyczna”. Jednakże należy podkreślić, że podczas omawiania wyników w przypadku większości analiz statystycznych wskazano test statystyczny, którym się posłużono i w poprawny sposób przeprowadzano wnioskowanie statystyczne na jego podstawie (drobne uwagi na ten temat przedstawię w dalszej części recenzji).

W rozdziale „Wyniki” rezultaty prac badawczych są raportowane w kolejności, która pozwala lepiej zrozumieć znaczenie białka BRM i kompleksu SWI/SNF w procesie kancerogenezy i progresji potrójnie ujemnego raka piersi. Doktorantka rozpoczyna omawianie wyników od analizy poziomu białka BRM w liniach MCF7 (model hormonozależnego raka piersi bez ekspresji HER2) i MDA-MB-231 (model TNBC). Następnie analizuje wpływ obniżenia i podniesienia poziomu BRM (odpowiednio linia MCF7 miBRM i

⁴ hodowle linii komórkowych, drożdży, bakterii, limfocytów, kohodowle, transformacja metodą szoku cieplnego i elektroporacji, testy: wzrostowy, losowej migracji, MTT, klonogenności, klonogenności w miękkim agarze, poboru glukozy i wydzielania mleczanu

⁵ różne techniki PCR, techniki elektroforetyczne, klonowanie, sekwencjonowanie, koimmunoprecypitacja, metoda dopełnienia fluorescencyjnego, immunoprecypitacja chromatyny

⁶ immunohistochemia, immunofluorescencja

⁷ mikroskopia jasnego pola, fluorescencyjna, konfokalna

MDA BRMox) na morfologię, wzrost i migrację hodowanych linii komórek raka piersi oraz na poziom ekspresji wybranych genów, oceniony w oparciu o poziom transkryptu (RNAseq i RT-qPCR) oraz poziom białka (Western blot). Należy podkreślić, że ze względu na liczne mechanizmy regulujące transkrypcję i translację, tylko takie podejście (choć pochłania znaczne koszty) gwarantuje wiarygodne wnioskowanie dotyczące ekspresji genów. W kolejnych częściach rozdziału „Wyniki” omówiony został wpływ ekspresji BRM na funkcję/ilość komórek nowotworowych w kohodowli z limfocytami TCD4+ oraz jego wpływ na ilość tych limfocytów. Następnie przedstawiono wyniki analizy kolokalizacji białek kompleksu SWI/SNF z białkiem SNAIL i SLUG, uzyskane przy wykorzystaniu immunofluorescencji, dwuhybrydowego systemu drożdżowego, koimmunoprecypitacji połączonej z techniką Western blot oraz dopełnienia fluorescencyjnego. Z kolei immunoprecypitacja chromatyny pozwoliła na określenie, jak białka SNAIL, SLUG i BRM wzajemnie regulują swoją funkcję. Na koniec omówione zostały wyniki analiz przeprowadzonych na materiale biopsyjnym od chorych na potrójnie ujemnego raka piersi. Na podkreślenie zasługuje bardzo dobre przygotowanie dokumentacji fotograficznej i grafiki, którą zaprezentowano na 31 rycinach uzupełniających treść „Wyników” i ułatwiających czytelnikowi zrozumienie trudnych treści tam prezentowanych. Liczba rycin jest dobrana do ilości tekstu. Reasumując, należy stwierdzić, że Pani mgr Iga Jacewicz posiada ponadprzeciętną biegłość w prowadzeniu pracy naukowej i raportowaniu jej wyników.

W tym miejscu pragnę wskazać kilka uchybień, które nie zaburzają przekazu i nie zmniejszają jakości omawianych wyników: (1) w przypadku rycin będących panelami wykresów nie zawsze zachowana jest kolejność cytowania poszczególnych wykresów wchodzących w skład panelu (przykładowo str. 98, 99, 100, 101); (2) nie jest do końca jasne, czy wnioskowanie o istnieniu różnic w poziomach transkryptów/białek/metabolitów/itd. przeprowadzono w oparciu o jakiś test statystyczny (dotyczy to rycin V3B, V7D i J, V10, V11, V14B, V16B, V25, V29D); (3) opisy na rycinie V15 są zbyt małe by czytelnik mógł je samodzielnie przeanalizować.

Logika rozumowania zastosowana w rozdziale „Dyskusja” jest spójna, a prowadzone rozważania konfrontują każdy z uzyskanych wyników z hipotezą badawczą pracy, wynikami innych autorów, a także z uznanymi hipotezami i koncepcjami naukowymi. Nie zapomniano także o praktycznych implikacjach uzyskanych rezultatów. W „Dyskusji” Pani mgr Iga Jacewicz wskazuje słabe strony swojej pracy i podejmuje próbę planowania przyszłych

badan na podstawie uzyskanych wynikow, co jest bardzo pożądaną cechą badacza i świadczy o jego dużej dojrzałości. Bardzo podoba mi się zakończenie „Dyskusji”, w którym Doktorantka graficznie oraz w krótkim opisie przedstawia hipotezę podsumowującą prowadzone w tym rozdziale rozważania.

Na koniec należy stwierdzić, że sformułowane przez Panią mgr Igę Jacewicz, wnioski wynikają ściśle z uzyskanych wynikow i są sformułowane z należytą ostrożnością. Przeprowadzone w rozprawie wnioskowanie jest efektem rzetelnego dowodzenia opartego na analizie danych i indukcji logicznej, która ostatecznie prowadzi do syntetycznego uogólnienia. W tym miejscu należy jeszcze raz podkreślić, że logiczne i spójne podsumowanie licznych eksperymentow o dużej złożoności metodycznej świadczy o nieprzeciętnym talencie badawczym Doktorantki.

Rekapitulując, stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595, z późn. zm.). Z tego względu wnioskuję do Wysockiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowego Instytutu Badawczego, o dopuszczenie mgr Igi Jacewicz do dalszych etapow przewodu doktorskiego. Wnioskuję również o przyznanie Pani mgr Idze Jacewicz wyróżnienia za wybitną rozprawę doktorską.

Rzeszów, 10 lutego 2021 r.

Dr hab. Joanna Niemiec, profesor UR

