

Lublin, dnia 17 czerwca 2019 roku

OCENA

dysertacji doktorskiej mgr Rafała Seredyńskiego pod tytułem „Badania aktywności wybranych metaloproteinaz macierzy w liniach komórkowych poddanych procedurze terapii fotodynamicznej”

Badania naukowe prowadzone w Zakładzie Fizykochemii Drobnoustrojów, Instytutu Genetyki i Mikrobiologii, Wydziału Nauk Biologicznych, Uniwersytetu Wrocławskiego, z udziałem promotora pracy doktorskiej prof. dr hab. Jana Gutowicza, ukierunkowane są, między innymi, na analizy biochemii i funkcji enzymów proteolitycznych (wśród nich MMP-ów) oraz wpływ różnych czynników na funkcję tych enzymów w stanach fizjologicznych i patologicznych.

Głównym i oryginalnym założeniem pracy doktorskiej mgr Rafała Seredyńskiego było poznanie efektów działania procedury terapii fotodynamicznej z użyciem kwasu 5-aminolewulinowego na właściwości i poziom aktywności metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej. Osiągnął to doktorant poprzez ocenę aktywności metaloproteinaz macierzy 2 i 9; badanie aktywności MMP w liniach komórkowych; zymografię i zymografię odwróconą (czyli ocenę poziomu TIMP) oraz wpływ na to wszystko terapii fotodynamicznej z użyciem kwasu 5-aminolewulinowego. Obserwował również wpływ SFCM i lizatów komórkowych na aktywność oczyszczonych MMP. Z tych względów temat i zakres badań dysertacji doktorskiej uważam za trafiony i interesujący, gdyż uzupełnia naszą wiedzę o biochemii i funkcji metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej, w tym rolę w procesach nowotworowych.

Oceniana rozprawa doktorska mgr Rafała Seredyńskiego obejmuje 127 stron standardowych tekstu, w tym 29 ilustracji (rysunków, schematów, wykresów i fotografii) oraz 3 tabele. Jest podzielona na typowe dla rozpraw doktorskich części, czyli wstęp i cel pracy, oraz część doświadczalną podzieloną na materiały i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie i wnioski, bibliografię streszczenie po polsku i po angielsku oraz dodatkowy aneks (zawierający 2 zestawy elektroforegramów i 1 tabelę).

Doktorant rozpoczyna swoją rozprawę doktorską od 20-stronicowego przeglądu literatury na temat MMP 2 i 9. Omawia same MMP 2 i 9, w tym aktywację proenzymów i mechanizm katalizy (wyjątkowo dobrze dobrane schematy); regulację ekspresji ich genów; i ich endogenne inhibitory. Omawia także udział metaloproteinaz macierzy 2 i 9 w procesach nowotworzenia. Dodatkowo skupia się na istocie terapii fotodynamicznej z użyciem kwasu 5-aminolewulinowego. Cenne jest doprowadzenie cytowanych publikacji do najnowszych, co dowodzi dobrego podejścia do doboru literatury oraz umiejętnego wykorzystywania źródeł.

Wstęp jest znakomitym wprowadzeniem do dysertacji, choć osobiście dorzuciłbym jeszcze kilka zdań na początku o ogólnym podziale MMP-ów i ich pozycji w systemie MEROPS. Chęć na parę zdań o „the light-dependent protein-protein interactions” jako składniku możliwych „przełączników molekularnych” reagujących na światło byłaby raczej, z mojej strony, fanaberią recenzenta. I nie chodzi tu o rośliny, lecz także o np. tkankowe grzyby wyższe i zwierzęta.

Co do celu pracy, to jest on przedstawiony w sposób zwięzły i klarowny, oraz podkreślający oryginalność pracy. Ułatwia także śledzenie przez czytającego następującej po nim części badawczej.

Materiały i metody są czytelne oraz przedstawione w sposób umożliwiający zarówno powtórzenie, jak i dokładniejszą analizę badań w przyszłości. Odczynniki oraz aparatura badawcza zostały przedstawione w klarowny sposób. Reakcja fotodynamiczna dla ułatwienia została zilustrowana schematem na rysunku 5. Dwie rzeczy pobudzają mnie leciutko do dyskursu. Pierwsza to, raczej poza dysertacją, porównanie substratów białkowych i syntetycznych (w tym tych do fluorometrii). Wiem, że te drugie są i wygodniejsze, i lepsze w standaryzacji, ale... Druga to termin zymografia odwrócona. Ponieważ takowa istnieje także dla proteaz, czy nie wygodniej byłoby mówić o zymografii (elektroforezie?) inhibitorów? Urozmaicone metody badawcze świadczą o wszechstronnym i krytycznym podejściu mgr Rafała Seredyńskiego do podjętego problemu badawczego. A ich użycie dowodzi znajomości trafnego dobierania metod do założonego celu naukowego.

Wyniki opisane są bardzo dobrze, a ich opracowanie graficzne jest poprawne i czytelne. Dla osoby zajmującej się enzymologią niejako „mówią same za siebie”. Sumarycznie rozdział ten czyta się płynnie i należy uznać go za wyjątkowo dobrą część rozprawy doktorskiej mgr Rafała Seredyńskiego, będącą równocześnie pełną realizacją założonych celów pracy. Należy

podkreślić bardzo dobrą jakość otrzymanych zymogramów i zymogramów odwróconych (które same z siebie są trudne do wykonania w wysokiej jakości i czytelności) oraz immunodetekcji. A także bardzo dobre wyniki z użyciem linii komórkowych (choć wielu badaczy kręci już nosem na badania z ich użyciem) i „western blot”.

Dyskusja wyników jest wnikliwa i dość obszerna (nawet w moim subiektywnym odczuciu za obszerna), daje też możliwość zestawienia wyników doktoranta z wynikami innych badaczy tematu i dyskusję z nimi. Dowodzi to również zapoznania się doktoranta z optymalnym doбором technik i narzędzi badawczych do analizy zagadnienia. Parę rzeczy do polemiki, które mi się nasunęły przy czytaniu, należy uznać za percepcję zagadnienia przez biochemika ogólnego, i jest do przedyskutowania w kuluarach.

Rozprawę kończy zwięzłe Podsumowanie i wnioski, które są istotnym brykiem dla „osoby postronnej” w stosunku do dyskusji wyników. Streszczenie w języku polskim i angielskim stanowi klarowny skrót zawartości dysertacji doktorskiej.

No i oczywiście obszerna bibliografia, licząca sobie 161 pozycji. Bardzo solidna, jak na tak wyspecjalizowane zagadnienie, jakim jest dysertacja.

Drobniuteńkie pomyłki i literówki oraz parę zjawisk typu „jest – nie ma”, ze względu na obszerność poruszanych zagadnień oraz dużą ilość cytowań praktycznie nie mają znaczenia. Powinny być wyłapano, w miarę możliwości do końca, przed opublikowaniem pracy lub jej fragmentów. Istotnych błędów redakcyjnych, językowych czy nomenklaturowych nie zauważyłem. Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna nie budzi istotnych zastrzeżeń.

Powyzsze subiektywne uwagi i polemiki nie mają wpływu na wysoką merytoryczną wartość pracy doktorskiej i jej ogólną wysoką pozytywną ocenę. Całą dysertację czyta się płynnie i z dużą przyjemnością. Jest jedną z licznych prac o MMP-ach, ale reprezentuje nieco świeższe podejście do zagadnienia i dzięki temu może być uważana za oryginalną.

Reasumując, stwierdzam, że praca doktorska Rafała Seredyńskiego pod tytułem „Badania aktywności wybranych metaloproteinaz macierzy w liniach komórkowych poddanych procedurze terapii fotodynamicznej” spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie

sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595, z późn. zm.). W pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim, jest dobrze zaplanowana, starannie wykonana i bardzo dobrze napisana. Jest także przykładem rozwiązywania problemu naukowego z wykorzystaniem różnych metod badawczych, zawiera elementy nowości naukowej i dowodzi osiągnięcia zamierzonego celu. Otwiera również perspektywę dalszego rozwoju naukowego mgr Rafała Seredyńskiego w wyznaczonym przez jego pracę kierunku, a także możliwość praktycznego zastosowania rezultatów przedstawionych badań w badaniach terapeutycznych i praktyce klinicznej. Moja subiektywna konkluzja jest taka, że jest to jedna z najlepszych dysertacji doktorskich jakie recenzowałem.

Uwzględniając wartość poznawczą rozprawy doktorskiej i wykazaną przez doktoranta dobrą znajomość problematyki przedkładam Radzie Naukowej Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego wniosek o dopuszczenie mgr Rafała Seredyńskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, ze względu na wysoką ocenę dysertacji doktorskiej, rekomenduję Radzie Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego wyróżnienie rzeczzonej rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.



Prof. dr hab. Krzysztof Grzywnowicz

Zakład Biochemii

Wydziału Biologii i Biotechnologii

Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie