

## **Recenzja rozprawy na stopień naukowy doktora nauk medycznych**

**Rafał Seredyński „Badania aktywności wybranych metaloproteinaz macierzy w liniach komórkowych poddanych procedurze terapii fotodynamicznej”,**

**wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Gutowicza**

Rozprawa doktorska Pana Rafała Seredyńskiego została przygotowana w oparciu o wyniki własnych badań i napisana w sposób typowy dla rozpraw doktorskich, t.zn. z podziałem na rozdziały i podrozdziały. Całość rozprawy doktorskiej liczy 127 stron.

Rozprawę rozpoczyna wykaz stosowanych skrótów. Następnie, we wstępie, Autor podaje skrótowe informacje na temat metaloproteinaz oraz terapii fotodynamicznej, PDT. W dalszej części wstępu bardzo wnikliwie opisuje dwie badane metaloproteinazy, tj. MMP2 i MMP9, poczynając od regulacji ekspresji genów *MMP2* i *MMP9*, omówienie proenzymów i mechanizmów ich aktywacji, mechanizmy katalizy z udziałem MMPs, a także przedstawia endogenne inhibitory MMP2 i MMP9. Osobny rozdział poświęcony jest udziałowi tych enzymów w procesie nowotworzenia, co stanowi zresztą bardzo istotną część całego wstępu w kontekście przeprowadzonych przez Autora badań.

We wstępie znalazło się także miejsce dla omówienia nieco dokładniej, na czym polega PDT, co pozwala Czytelnikowi lepiej zrozumieć sens przeprowadzonych badań i ich znaczenie dla onkologii. Autor uwzględnił tutaj mechanizmy działania, według których 5-ALA-PDT generuje reaktywne formy tlenu, które uczestniczą w aktywacji latentnych form MMP2 i MMP9. Autor zwraca przy tym uwagę, że stres oksydacyjny może wzmacniać ekspresję genów obu MMPs i zaburzać także ten proces.

Cele pracy zostały jasno i zwięźle sformułowane z uwzględnieniem celów cząstkowych/szczegółowych.

W kolejnym rozdziale Autor opisuje wykorzystane do badań materiały, środki nietrwałe oraz procedury. Opis ten obejmuje linie komórek nowotworowych wykorzystanych w badaniach, tj. raka jelita grubego, piersi oraz czerniaka złośliwego, oraz procedurę PDT.

Następnie Autor przedstawia opis badań aktywności MMP2 i MMP9 wraz z oceną wpływu 5-ALA na aktywność tych enzymów. Badanie aktywności MMP2 i MMP9 na liniach komórkowych poddanych PDT stanowi dalszą część rozdziału poświęconego Materiałom i Metodom, zaś w kolejnych podrozdziałach Autor przedstawia szczegółowo wykorzystane metody analityczne, głównie enzymatyczne, oraz zastosowane analizy statystyczne.

Rozdział prezentujący wyniki badań stanowi najobszerniejszą część rozprawy, co jest zrozumiałe w kontekście dużej liczby wykorzystanych w tej pracy metod badawczych i bogactwa uzyskanych w ten sposób wyników badań. Część rozprawy poświęcona wynikom badań jest dobrze zilustrowana licznymi rycinami (jest ich łącznie 27) oraz tabelą.

W dyskusji Autor omawia wyniki prac innych autorów, ale również nawiązuje do swoich badań, konfrontując je ze sobą. Doktorant zwraca uwagę na fakt, że reaktywne formy tlenu wpływają na ekspresję genów *MMP2* oraz *MMP9*, indukując je, aczkolwiek inni autorzy zaobserwowali zmniejszenie tej ekspresji, co może stanowić pewne zaskoczenie. W PDT w licznych wcześniejszych pracach dosyć często obserwowano rozbieżne wyniki badań odnośnie ekspresji wybranych białek, co może być związane z różnymi, często nieporównywalnymi, warunkami eksperymentu.

W końcowej części rozprawy Autor podsumowuje najważniejsze spostrzeżenia wynikające ze swoich badań:

- zmniejszenie zewnątrzkomórkowej aktywności MMP2 i MMP9 było widoczne po około 2 dniach od rozpoczęcia PDT i towarzyszyła temu zwiększona produkcja inhibitorów

TIMPs oraz, prawdopodobnie, alfa 2-makroglobuliny. W związku z powyższym sensowne wydaje się być stwierdzenie Autora, że dalsze badania nad rolą TIMPs w PDT są niezbędne.

W podsumowaniu i wnioskach Autor nawiązuje do obranych celów naukowych badań. Analiza tej części pracy pozwala stwierdzić, że cele pracy zostały zrealizowane, przy czym najciekawszy wydaje się wniosek czwarty, który pozostawia otwartą furtkę do dalszych badań, do czego Autora pracy gorąco zachęcam, zwłaszcza w kontekście białek LRP-1 i LRP-2.

Piśmiennictwo wykorzystane przy przygotowaniu pracy obejmuje 161 pozycji, z czego znacząca część, tj około 50% pochodzi z ostatnich 6-7 lat. Prace kończą rozdziały, streszczenie w języku polskim oraz angielskim.

Obowiązkiem recenzenta rozprawy doktorskiej jest zwrócenie uwagi na pewne niedociągnięcia zauważone w trakcie lektury manuskryptu. Są one bardzo nieliczne i poniżej wymienione w punktach:

1. Autor wspomina o toksyczności wywołanej przez PDT; lepiej jest mówić o „fotocytotoksyczności” (ang. photocytotoxicity), dla odróżnienia od cytotoksyczności, którą w PDT najczęściej utożsamia się z warunkami bez dostępu światła „dark cytotoxicity”.
2. Komórki poddane PDT odpowiadają szeregiem zmian morfologicznych, np. martwicą, apoptozą i autofagią. Autor wspomina o tych zmianach w pracy. Warto by było wesprzeć część ilustracyjną pracy o zdjęcia badanych linii komórkowych: jak zareagowały one na PDT. Tym bardziej, że Autor badał przeżywalność tych komórek.

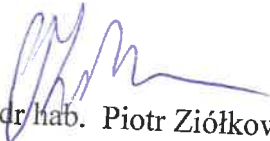
3. Autor przebadwał kilka linii komórek raka jelita grubego. Może warto było dołączyć jedną linię powszechnie dzisiaj występującego raka oskrzela, raka jajnika lub będącego wyzwaniem dla onkologów glejaka.
4. Rak piersi jest nazwą popularnonaukową. Powinno się stosować albo rak brodawki sutkowej (zarówno nowotwory pierwotne jak i eksperymentalne u zwierząt) lub, i to jest nazwa najbardziej właściwa, rak gruczołu piersiowego.

Reasumując, uważam że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pana Rafała Seredyńskiego 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 późniejszymi zmianami).

W związku z tym wnoszę do Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o kontynuowanie postępowania o nadanie Panu Rafałowi Seredyńskiemu stopnia doktora.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Wrocław, 8 lipca 2019 r.

  
prof. dr hab. Piotr Ziółkowski

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu