



Dr hab. Edyta Gendaszewska-Darmach
Instytut Biochemii Technicznej
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka
ul Stefanowskiego 4/10
90-924 Łódź

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marcina Popielarskiego „Mechanizm aktywacji integryny $\alpha 11\beta 1$ ”

Integryny to heterodimeryczne transbłonowe glikoproteiny odpowiedzialne za interakcję typu komórka-komórka oraz komórka-białka macierzy pozakomórkowej. Heterodimery obejmują dwie, połączone niekowalencyjnym wiązaniem, podjednostki α i β . Jak dotąd, poznano co najmniej 18 typów łańcucha α i 8 typów łańcucha β , co pozwala na stworzenie 24 rodzajów kombinacji receptorów dla białek macierzy pozakomórkowej. Umożliwia to skomplikowaną, lecz precyzyjną regulację szeregu procesów zachodzących w organizmie ludzi i zwierząt, poczynając od wczesnych faz embriogenezy po utrzymanie prawidłowej struktury i funkcji dojrzałych tkanek oraz udział w odpowiedzi komórek na infekcje, w gojeniu ran, ale także w metastazie komórek nowotworowych.

Wśród wielu podjednostek α , jedną z najmniej poznanych jest podjednostka $\alpha 11$. Integryna $\alpha 11$ ulega ekspresji w wielu tkankach zarodka, ale zanika wraz z procesem różnicowania w tkankach dorosłych. Heterodimer $\alpha 11\beta 1$ jest produkowany w różnych typach fibroblastów, w tym także w fibroblastach stromy gruczolaka oraz raka płaskonabłonkowego płuc. Interesującą jest zwłaszcza obserwacja wskazująca na udział integryny $\alpha 11$ w diagnostyce nowotworów płuc, co wskazuje na możliwość zastosowania poziomu ekspresji genu kodującego podjednostkę $\alpha 11$ jako markera diagnostycznego. Co więcej, zaobserwowano, iż heterodimer $\alpha 11\beta 1$ bierze udział w różnicowaniu się miofibroblastów, będącym jednym z czynników wpływających na rozwój zwłóknień w różnych typach tkanek. Poznanie mechanizmów aktywacji integryny $\alpha 11\beta 1$ może więc być



istotnym krokiem w zbadaniu roli tej integryny w patogenezie niedrobnokomórkowych nowotworów płuc, jak również w patogenezie zjawisk fibrotycznych.

W przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej jej autor, mgr Marcin Popielarski podejmuje zadanie określenia mechanizmu aktywacji integryny $\alpha 11\beta 1$ ze szczególnym uwzględnieniem podjednostki $\alpha 11$ oraz roli, jaką w tym procesie pełni izomeraza disiarczkowa (PDI). Przejściu integryn z postaci nieaktywnej do aktywnej towarzyszy bowiem reorganizacja wiązań disiarczkowych, katalizowana właśnie przez izomerazę PDI. Jako model komórkowy została wyselekcjonowana linia nieśmiertelnych fibroblastów skóry człowieka hTERT BJ.

Praca została wykonana w Zakładzie Cytobiologii i Proteomiki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem dr. hab. prof. nadzw. Marii Świątkowskiej. Kierowany przez Nią zespół od kilku lat prowadzi z sukcesem badania związane z charakterystyką białek adhezyjnych, a rozprawa doktorska mgr Marcina Popielarskiego wpisuje się w ten niezwykle interesujący nurt badań.

Formalnie praca liczy 137 stron i składa się z wprowadzenia oraz opisu celu badań wraz z wypunktowaniem celów szczegółowych, materiałów i metod, wyników i ich dyskusji. Na końcu pracy autor umieścił streszczenia w wersji polsko- i angielskojęzycznej oraz spis pozycji bibliograficznych.

Wstęp literaturowy przedstawionej do oceny dysertacji obejmuje trzy podrozdziały poświęcone ogólnej charakterystyce receptorów integrynowych, modyfikacji mostków dwusiarczkowych w procesie aktywacji w/w receptorów oraz opisowi integryny $\alpha 11$. Warto tutaj zauważyć, iż dwa pierwsze podrozdziały zawierają w przeważającej części materiał ujęty w postaci artykułu „Rola izomerazy disiarczkowej w aktywacji integryn” i opublikowany wcześniej w *Postęпах Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. Nie jest to jednak zarzut, lecz wyraz uznania, zwłaszcza że Pan Popielarski jest pierwszym i jednocześnie korespondencyjnym autorem.

Recenzja opublikowanych prac jest z założenia zadaniem znacznie łatwiejszym dla recenzenta. Praca eksperymentalna Pana Popielarskiego została także wysoko oceniona i zweryfikowana przez co najmniej dwóch recenzentów. Materiał przedstawiony w części „Wyniki” został bowiem opublikowany w czasopiśmie *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Doktorant również w tym przypadku jest pierwszym i





Jednocześnie korespondencyjnym autorem. W badaniach nad mechanizmem aktywacji integryny $\alpha 11\beta 1$ Doktorant zastosował interdyscyplinarne podejście wykorzystujące zarówno mapowanie chemiczne wolnych grup tiolowych, klasyczne metody biologii molekularnej oparte na wykorzystaniu przeciwciał, analizy mikroskopowe, technikę powierzchniowego rezonansu plazmonowego oraz testy funkcjonalne. W toku przeprowadzonych analiz wykazano, że w odpowiedzi na adhezję fibroblastów linii hTERT BJ do liganda integryny $\alpha 11\beta 1$ – kolagenu typu I, izomeraza disiarczkowa może oddziaływać z integryną $\alpha 11$ za pośrednictwem wiązań disiarczkowych. Poza tym udowodniono, że zastosowanie blokerów wolnych grup tiolowych oraz inhibitorów PDI blokuje procesy adhezji i migracji komórek za pośrednictwem integryny $\alpha 11$. Czynniki blokujące wolne grupy tiolowe oraz inhibitory PDI hamują również proces kurczenia się żelu kolagenowego.

Dyskusja wyników stanowi kluczowy element pracy doktorskiej, gdzie młody badacz podejmuje się interpretacji poczynionych obserwacji. Również ta część nie zawiera uchybień i stanowi bardzo rzetelną i ciekawą lekturę.

Praca doktorska mgr Marcina Popielarskiego stanowi dość obszerną lekturę i warta podkreślenia jest niezwykła staranność, z jaką została przygotowana. Niewielka ilość błędów edytorskich (np. błąd numeracji rycin, gdyż dwie ryciny zostały oznaczone tym samym numerem 4 (str 30 i str. 35)) stanowi tego potwierdzenie. Na podkreślenie zasługuje także bogata literatura ujęta w postaci 295 pozycji bibliograficznych.

Nakreślone na początku cele pracy, które stanowią złożone problemy badawcze zostały zrealizowane w sposób skrupulatny i przemyślany. Nie oznacza to jednak, że tematyka badawcza została w tym obszarze wyczerpana. Wręcz przeciwnie otwiera nowe pola do dyskusji, a otrzymane wyniki stanowią punkt wyjścia do dalszych badań. Dlatego, mimo obecności pewnych sugestii w przedstawionej dysertacji, prosiłabym Doktoranta o kilka zdań na temat możliwości podjęcia kolejnych kroków badawczych w oparciu o uzyskane dotychczas wyniki.

Ponadto, podczas lektury pracy doktorskiej nasunęły mi się pytania, a niektóre z nich wymieniam poniżej:

1. Na stronie 65 przedstawiono rycinę obrazującą ekspresję podjednostki $\alpha 11$ w różnych liniach komórkowych. Dlaczego nie użyto mysich przeciwciał przeciwko aktynie?
2. Czym był podyktowany wybór linii komórkowych hTERT BJ, HT29 oraz EA.hy926?





Podsumowując, przedstawioną do recenzji dysertację oceniam wysoko. Cele zostały jasno określone, cykl eksperymentalny dobrze przemyślany, a Doktorant wykazał się znajomością różnych technik badawczych. Dlatego stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Marcina Popielarskiego spełnia warunki określone w art. 13 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. 593 z późniejszymi zmianami). Z pełnym przekonaniem wnioskuję więc do Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Marcina Popielarskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie chciałabym podkreślić, iż dorobek naukowy Pana mgr Popielarskiego jest wysoki, jak na ten etap rozwoju kariery naukowej. Jest on współautorem pięciu prac naukowych, w tym czterech opublikowanych w czasopismach ujętych w zbiorach Journal Citation Report (prace w *Frontiers in Bioscience*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, *Pathology & Oncology Research*). Z tego względu oraz z uwagi na znaczący wkład w poszerzenie i weryfikację dotychczasowej wiedzy naukowej, wnioskuję by wyróżnić recenzowaną pracę doktorską, jeżeli oczywiście zostaną spełnione wszystkie kryteria wymagane przez Radę Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Edyta Gembasiewicz-Darmach

