

Prof. dr hab. Maria Koziółkiewicz,
Instytut Biochemii Technicznej
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka
ul. Stefanowskiego 4/10
90-924 Łódź

Łódź, 18 czerwca 2019r.

RECENZJA

**Rozprawy doktorskiej mgr Marty Wawro na temat:
"Rola podjednostek tubulin klasy β
w przemianie śródbłonkowo-mezenchymalnej"**

Praca doktorska mgr Marty Wawro została wykonana w Zakładzie Molekularnych Mechanizmów Komórkowych na Wydziale Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. dr hab. Jolanty Niewiarowskiej i doktor Katarzyny Sobierajskiej jako promotora pomocniczego. Doktorantka przedstawiła rozprawę doktorską w postaci trzech publikacji, których jest pierwszym autorem i które ukazały się w latach 2017-2019 w czasopiśmie *Cell Signaling* (IF=3,937) oraz *International Journal of Molecular Sciences* (IF=3,687) (dwie prace). Rozprawa zawiera także wstęp literaturowy, omówienie celu pracy, dyskusję, wnioski oraz krótkie streszczenia w języku polskim i angielskim. Ze względów formalnych zamieszczono także oświadczenia współautorów o ich udziale w w/w publikacjach oraz listę pozostałych osiągnięć i aktywności naukowych Pani mgr Marty Wawro.

Przemiana śródbłonkowo-mezenchymalna (ang. EndMT) to proces, w którym w komórkach śródbłonka zachodzi obniżenie ekspresji pewnych genów kodujących charakterystyczne dla tych komórek białka markerowe; w zamian następuje wzrost ekspresji innych genów kodujących białka markerowe komórek mezenchymalnych. Proces przemiany EndMT leży u podłoża chorób nowotworowych oraz zjawiska zwłóknienia, które jest efektem patologicznego gojenia ran. Zmianom na poziomie ekspresji genów towarzyszą zmiany polarności i kształtu komórek oraz zmiany ich właściwości adhezyjnych i potencjału migracyjnego.

Można więc było oczekiwać, że w przemianie śródbłonkowo-mezenchymalnej uczestniczą mikrotubule i tworzące je podjednostki tubulin, ale ich rola w tym procesie nie została dotychczas dostatecznie wyjaśniona. Warto w tym miejscu podkreślić, że tubuliny ulegają różnego rodzaju modyfikacjom potranslacyjnym, co może mieć znaczący wpływ na modulowanie ich funkcji i sposobu oddziaływania z innymi białkami. Zagadnienia związane z przemianą śródbłonkowo-mezenchymalną i znaczenie tego procesu w etiologii określonych chorób Doktorantka przedstawiła w sposób bardzo jasny i klarowny w rozdziale I zatytułowanym „Wstęp”.

Celem badań, które mgr Marta Wawro realizowała pod opieką prof. Jolanty Niewiarowskiej oraz dr Katarzyny Sobierajskiej było potwierdzenie hipotezy o udziale tubulin i mikrotubul w przemianie EndMT oraz wyjaśnienie wpływu niektórych leków na reorganizację mikrotubul. Lista leków przeciwnowotworowych, które wpływają na proces polimeryzacji tubulin jest dość długa i obejmuje m.in. alkaloidy barwinka różyczkowego, tzw. alkaloidy *Vinca* (winkrystyna i winblastyna) oraz taksany.

Pani mgr Marta Wawro zastosowała w swoich badaniach trzy typy modeli komórkowych przemiany EndMT, tzn. komórki HMEC-1, komórki HMEC-1 traktowane czynnikiem TGF- β 1 lub transfekowane czynnikiem Snail oraz komórki HMEC-1 rosnące w medium kondycjonowanym pochodzącym z hodowli komórek nowotworu jelita grubego LoVo oraz wariantu LoVo z nadekspresją czynnika Snail (komórki te otrzymano w laboratorium prof. Niewiarowskiej). Doktorantka wykazała, że jednym z najważniejszych czynników indukujących EndMT jest TGF- β 2, a zjawisku temu towarzyszy wzrost poziomu tubuliny- β 3 oraz wzrost poziomu jej fosforylacji. Fosforylacja seryny 172 tej klasy tubulin ma znaczenie dla dynamiki mikrotubul, a konkretnie dla ograniczenia ilości rozpuszczalnych heterodimerów tubuliny- α i - β dostępnych dla procesu polimeryzacji.

Bardzo ważne są także wyniki badań dotyczące wpływu niektórych leków na przemianę EndMT. Wiadomo, że taksany i alkaloidy *Vinca* mają wpływ na tworzenie mikrotubul, ale mechanizmy ich działania są różne: taksany stabilizują strukturę mikrotubul, natomiast alkaloidy *Vinca* mają działanie destabilizujące. Doktorantka przytacza jednak dane literaturowe o efektach ubocznych wywoływanych przez te cytostatyki, np. winkrystyna stosowana w terapii raka jelita grubego sprzyja powstawaniu komórek CAFs czyli tzw. fibroblastów związanych z nowotworami. Z myślą o terapiach skojarzonych testuje się

ostatnio niesteroidowe leki przeciwzapalne, których działanie polega prawdopodobnie na zmniejszeniu stanu zapalnego.

Pani Marta Wawro zastosowała takie podejście w swoich badaniach i wykazała, że zastosowanie NLPZ wraz z alkaloidami barwinka (np. winkrystyny) powodowało zmniejszenie poziomu tubuliny- β 3 oraz wzrost poziomu izotypów β 2 i β 4. Efektem zmian poziomu tych trzech izotypów tubulin jest zahamowanie polimeryzacji i powstawanie silniejszych struktur mikrotubul. Doktorantka konkluduje, że w terapii chorób związanych z przemianą śródbłonkowo-mezenchymalną należy rozważyć stosowanie NLPZ jako czynników regulujących poziom tubulin.

W trakcie realizacji projektu niezbędne okazało się wyciszenie syntezy białek za pomocą siRNA, zastosowanie metod immunochemicznych oraz wykorzystanie szeregu testów potwierdzających funkcje życiowe komórek (ich proliferację, migrację, tworzenie struktur kapilarno podobnych, adhezję do białek ECM i inne). Wyniki tych badań zostały zamieszczone w trzech publikacjach, które zawierają szczegółową i bardzo bogatą dokumentację przeprowadzonych eksperymentów.

Na uwagę zasługują także dwa rozdziały dysertacji: wstęp i dyskusja. Są napisane w sposób oszczędny, ale jednocześnie przemyślany i jednoznaczny. Doceniam samodyscyplinę Doktorantki, która starannie selekcjonuje informacje i wybiera te, które są niezbędne dla klarowności przekazu, ale może warto było wzbogacić tę część rozprawy niektórymi, najbardziej spektakularnymi zdjęciami i schematami zamieszczonymi w publikacjach. Jak wspomniałam, dokumentacja przeprowadzonych eksperymentów jest bardzo bogata i zapewne z tego powodu niektóre wyniki umykają uwadze czytelnika. Jest to jednak uwaga o charakterze czysto edytorskim, nie mająca żadnego wpływu na moją bardzo dobrą ocenę rozprawy doktorskiej mgr Marty Wawro.

Podsumowując, bardzo pozytywnie oceniam badania przeprowadzone przez Doktorantkę i sposób ich przedstawienia w rozprawie doktorskiej. Stwierdzam, iż powyższa rozprawa spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późn. zm). Dlatego przedstawiam Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Pani mgr Marty Wawro do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

M. Koniński