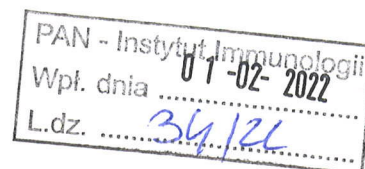




WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII

ZAKŁAD PATOLOGII KOMÓRKI
ul. Joliot-Curie 14a
50-383 Wrocław

www.biotech.uni.wroc.pl



Dr hab. Dorota Nowak, prof. UWr

Wrocław, 31 stycznia 2022

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Sylwii Janik zat. „Regulacja ekspresji genu VDR w czasie hematopoezy u myszy”

Witamina D wykazuje szereg powszechnie znanych aktywności biologicznych, takich jak regulacja gospodarki wapniowo-fosforanowej czy wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego. Działanie aktywnej witaminy D zwanej kalcytriolem, odbywa się poprzez pobudzenie receptora - VDR, który kontroluje ekspresję wielu genów. Badania ostatniej dekady wykazały związek pomiędzy poziomem ekspresji tego receptora i rokowaniem u pacjentów z białaczką, co tłumaczy się udziałem VDR w sygnalizacji związanej z procesem różnicowania komórkowego. Pomimo faktu, że obecność tego receptora w komórkach krwi jest dobrze udokumentowana, wiedza na temat jego roli w procesie hematopoezy jest ograniczona.

Praca doktorska pani mgr Sylwii Janik koncentruje się na poznaniu roli sygnalizacji VDR w różnicowaniu komórek krwi, ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów regulacyjnych tego procesu.

Przedstawiona do oceny praca doktorska została wykonana pod kierunkiem pani dr hab. Małgorzaty Cebrat z Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk. Badania obejmujące projekt doktorski były przeprowadzone w Laboratorium Immunologii Molekularnej i Komórkowej IiITD we współpracy z Zespołem pani prof. Ewy Marcinkowskiej z Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego w ramach grantu OPUS finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Oceniana przeze mnie praca liczy 148 stron, w tekście zamieszczono 39 rycin, 26 tabel i cytowano 146 pozycji literaturowych. Z obowiązku recenzenta muszę z

załem zauważyć, że wśród zacytowanych prac jedynie 10% pochodzi z ostatnich pięciu lat. Fakt ten dziwi, ponieważ podejmowany temat jest aktualny, w związku z czym w bazach literaturowych można znaleźć szereg prac na temat niekanonicznej, w tym przeciwnowotworowej, aktywności witaminy D.

Rozprawa doktorska pani mgr Sylwii Janik ma układ typowy dla tego typu opracowań. W 22 stronicowym „Wstępie” Autorka przedstawiła informacje objaśniające temat i ułatwiające czytelnikowi zrozumienie całości pracy. Na początku tego rozdziału Doktorantka zamieszcza dane dotyczące budowy, właściwości oraz mechanizmów działania witaminy D oraz receptora VDR. Swoją uwagę koncentruje również na zagadnieniach dotyczących roli witamin D i A oraz ich receptorów w procesie nowotworzenia. Tą część pracy zamykają rozdziały przybliżające hematopoezę oraz mechanizmy jej regulacji. Zakres informacji zawartych we wstępie jest adekwatny do opisanych później wyników i nie zawiera zbędnych wątków.

Głównym celem pracy doktorskiej pani mgr Sylwii Janik było poznanie mechanizmów regulacji transkrypcji genu receptora VDR na modelu mysim na różnych etapach hematopoezy oraz ustalenie wpływu regulacyjnych czynników uwzględnianych w strategiach terapeutycznych ludzkich białaczek – kalcytriolu i kwasu retinowego. Opis stosowanych materiałów oraz technik biologii molekularnej został przez Doktorantkę uporządkowany w 40 stronicowym rozdziale „Materiały i Metody” w dość szczegółowy sposób, co ułatwiło zrozumienie części eksperymentalnej. Po lekturze tej części pracy mam do Autorki pracy jedno pytanie. W rozdziale 3.2.41 dotyczącym stymulacji komórek 1,25-dihydroksywitaminą D3 i ATRA podano stężenia dla obydwu czynników – 10 nM dla witaminy D3 i 1 μ M dla ATRA. Skąd taki wybór? Czy Doktorantka prowadziła eksperymenty w innych warunkach?

Najbardziej interesujący rozdział rozprawy doktorskiej to oczywiście „Wyniki”. Przedstawione rezultaty są pogrupowane w obrębie czterech zagadnień, choć Doktorantka w „Celu pracy” wspomina o pięciu celach szczegółowych. Pani mgr Janik koncentruje się na identyfikacji funkcjonujących w mysich komórkach krwi promotorów genu *VDR*, wyznaczeniu profilu ekspresji wariantów transkrypcyjnych tego genu, zbadaniu wzoru metylacji promotorów

oraz określeniu elementów regulatorowych wiążących receptor dla witaminy D3 w obrębie *locus VDR*.

Przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej eksperymenty służące do realizacji wymienionych celów pozwoliły na ustalenie, że w mysich komórkach krwi istnieje jeden wariant transkrypcyjny, kontrolowany przez pojedynczy, nieregulowany poprzez metylację, region promotorowy.

Doktorantka wykazała ponadto, że ekspresja genu *VDR* w różnych komórkach i organach myszy jest zróżnicowana. Najniższa w limfocytach B i T, wyższa w śledzionie, grasicy i szpiku kostnym, zaś najwyższa w macierzystych i progenitorowych komórkach hematopoetycznych. To ciekawa obserwacja i chętnie usłyszałabym od Doktorantki w trakcie publicznej obrony komentarz na temat takiego zróżnicowania. Ze względu na fakt, że w przypadku komórek ludzkich istnieje zależność pomiędzy ekspresją *VDR* a receptorem kwasu retinowego - RAR, również i ten wątek w pracy doktorskiej był podnoszony. Pani mgr Janik ustaliła jednak, że receptor *VDR* i RAR nie współdziałają w regulacji ekspresji genu *VDR*, który jest raczej aktywowany poprzez autoregulację, co stanowi jeden z najciekawszych wyników ocenianej pracy doktorskiej. Tu znów pojawia się u mnie jednak wątpliwość wyrażona wcześniej po analizie metodyki pracy. Czy fakt braku obserwacji współdziałania obydwu receptorów w komórkach myszy nie wynika przypadkiem z innych niż u człowieka uwarunkowań tych regulacji?

Podsumowując, wyniki uzyskane w przedstawionej do oceny pracy doktorskiej są znacząco różne od opublikowanych wcześniej dotyczących modelu ludzkiego. Wątek ten podejmuje Doktorantka w części „Dyskusja”. Jest to dobrze napisana część pracy doktorskiej, w której Autorka bardzo ostrożnie i krytycznie odnosi się do uzyskanych rezultatów, analizuje zasadność prowadzenia badań na modelu mysim w przypadku zagadnień dotyczących chorób człowieka. Podejmuje się również wyjaśnienia wykazanego przez siebie mechanizmu autoregulacji ekspresji genu *VDR* w organizmie myszy.

Oceniana przeze mnie praca doktorska została napisana poprawną polszczyzną i starannie opracowana pod względem edytorskim. Jest to dokument zwięzły i przejrzysty. Na pochwałę zasługują autorskie schematy – np. Rycina 28 w rozdziale „Wyniki” czy 39 w rozdziale „Dyskusja”, które dobrze podsumowują

oraz ilustrują najważniejsze rezultaty. Tekst zawiera pewne błędy stylistyczne i literowe oraz zapożyczenia z języka angielskiego, takie jak „peletka” zamiast „osad” czy „h” zamiast „godzina”, ale nie mają one wpływu na moją jej ocenę.

Analizując dorobek publikacyjny Pani mgr Sylwii Janik stwierdzam, że jest Ona współautorką sześciu publikacji o współczynniku oddziaływania 22, cytowanych 38 razy (wg bazy Scopus). Dwie z tych prac, opublikowane w czasopismach International Journal of Molecular Sciences oraz Cells, dotyczą rezultatów uzyskanych w ramach niniejszej pracy doktorskiej i w tych przypadkach pani mgr Janik jest odpowiednio pierwszą i drugą Autorką.

Reasumując, rozprawę doktorską pani mgr Sylwii Janik oceniam wysoko. W moim przekonaniu Doktorantka uzyskała interesujące wyniki, które stanowią uzupełnienie wiedzy dotyczącej mechanizmów regulacyjnych genu receptora VDR. Sygnalizacja VDR jest związana z indukcją różnicowania i zatrzymania wzrostu komórek, dlatego zastosowanie analogów witaminy D stanowi atrakcyjną alternatywę dla cytostatyków stosowanych w leczeniu ostrej białaczki szpikowej.

Dlatego stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pani mgr Sylwii Janik spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.IJ.Nr 65 poz. 595; z późn. zm.), zgodnie z art.175.1. ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669) i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie nauki biologiczne.

