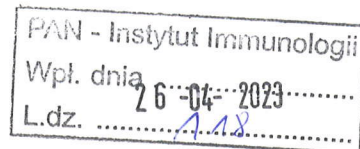




UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM MEDICUM  
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski



## RECENZJA

### Rozprawy doktorskiej mgr Marty Dratwy

**pt. „Zmienność genetyczna podjednostki katalitycznej telomerazy TERT w kontekście jej ekspresji i długości telomerów w modelu komórkowym *in vitro* oraz u pacjentów z chorobami nowotworowymi”**

Praca została wykonana pod kierunkiem Prof. dr hab. Katarzyny Boguni-Kubik (promotor pomocniczy dr Barbara Wysoczańska) w Laboratorium Immunogenetyki Klinicznej i Farmakogenetyki, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu.

### Strona formalna rozprawy.

Doktorantka, mgr Marta Dratwa skorzystała z możliwości jakie daje Art.187 pkt.3 ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” z dn. 20 lipca 2018 r. i przedstawiła swoją rozprawę jako „(...) zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych (...)”. Na rozprawę składa się łącznie 5 artykułów (w tym 4 publikacje oryginalne), spełniających ustawowy wymóg spójności tematycznej, opublikowanych w latach 2019-2022 w czasopismach międzynarodowych o sumarycznym współczynniku oddziaływania  $IF=22,108$  i punktacji Ministerstwa Edukacji i Nauki wynoszącej 590 punktów. W 4 pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, a w jednej – drugim, co świadczy o Jej wiodącej roli na etapie ich powstawania. Fakt ten dodatkowo jest poparty oświadczeniami Doktorantki i pozostałych współautorów publikacji o ich procentowym udziale i roli w przygotowaniu tych prac. W tym miejscu pragnę podkreślić, iż tak obszerny zestaw publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej należy do rzadkości - spotykany jest raczej przy ocenie osiągnięcia naukowego w postępowaniach habilitacyjnych (i to nie zawsze), ale nie rozpraw doktorskich. Świadczy to z jednej strony o zaangażowaniu i determinacji Doktorantki do jak najdokładniejszego zgłębienia tematu swoich

Instytut Pediatrii

Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii | Zakład Immunologii Klinicznej

ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków, tel. +48 12 658 24 86, faks +48 12 658 17 56

www.cm-uj.krakow.pl

badan, a z drugiej, o dobrej organizacji pracy badawczej, pozwalającej Doktorantce na zgromadzenie wyników, ich opracowanie i opublikowanie w relatywnie krótkim czasie w 4 artykułach oryginalnych w renomowanych czasopismach naukowych. Uzupełnieniem artykułów oryginalnych jest publikacja przeglądowa z pierwszym autorstwem Doktorantki, potwierdzająca Jej gruntowną znajomość tematyki oraz umiejętność redagowania tego typu prac.

Rozprawę poprzedza informacja o finansowaniu przedmiotowych badań z projektu „TargetTelo” w ramach programu STRATEGMED 3 Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, w którym podzadanie zatytułowane „Analiza zmienności genetycznej w obrębie jednostki katalitycznej telomerazy” było realizowane pod kierunkiem Promotora Doktorantki. Jest to istotny aspekt, dodatkowo podnoszący rangę podjętych badań. W dalszej kolejności następują streszczenia w języku polskim i angielskim, spis publikacji wchodzących w skład rozprawy oraz oświadczenia Doktorantki i pozostałych współautorów o ich roli w powstawaniu publikacji. Rozprawę zamyka lista wniosków w języku angielskim. Do rozprawy dołączony jest również autoreferat Doktorantki, w którym mgr Dratwa wprowadza czytelnika w problematykę swoich badań, prezentuje jasno sformułowane cele badawcze, omawia zawarte w publikacjach wyniki i przedstawia podsumowujące je wnioski. Całość zamyka bogata literatura przedmiotu i notka biograficzna Autorki, uwzględniająca również Jej aktywność na rzecz popularyzacji nauki.

### **Ocena merytoryczna rozprawy.**

W sytuacji, gdy dysertację doktorską stanowi cykl opublikowanych artykułów recenzent ma teoretycznie ułatwione zadanie, gdyż publikacje zostały już poddane wnikliwej ocenie przez recenzentów wyznaczonych przez redakcje czasopism. W praktyce, niełatwo jest jednak ocenić indywidualny wkład doktoranta/doktorantki, zwłaszcza w przypadku publikacji wieloautorskich, a istotne jest określenie, które wyniki przedstawione w publikacjach oryginalnych, kluczowych w postępowaniu na stopień doktora, są jego/jej zasługą. W tym konkretnym przypadku, z załączonych do rozprawy oświadczeń współautorów prac oryginalnych jasno wynika, iż mgr Marta Dratwa miała wiodący udział w ich powstaniu, nie tylko na etapie wykonywania badań, ale również przy tworzeniu koncepcji tych prac.

Autoreferat zawierający omówienie cyklu publikacji posiada układ typowy dla opracowań naukowych. We „Wprowadzeniu” Autorka zapoznaje czytelnika z tematyką podjętych badań, poczynając od charakterystyki telomerazy, opisu jej funkcji biologicznych i występowania komórkowego. Dalej koncentruje się nad opisem jej podjednostki katalitycznej TERT oraz czynników modulujących aktywność TERT, w tym genetycznych i epigenetycznych. Aspekty te Doktorantka wiąże z aktywnością TERT w komórkach nowotworowych, zarówno nowotworów hematologicznych, jak i guzów litych, wskazując na możliwości molekularnych terapii przeciwnowotworowych nakierowanych na hamowanie aktywności i/lub ekspresji TERT. Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na drobne nieścisłości jakie pojawiły się w tej części tekstu. I tak Doktorantka opisując komórki o fizjologicznie wysokiej aktywności telomerazy wymienia m.in. hepatocyty i aktywowane

limfocyty T i B, po czym stwierdza, iż „ekspresji tego enzymu nie identyfikuje się w komórkach somatycznych”. Sprzecznie opisane jest też znaczenie długości telomerów u kobiet z rakiem piersi w kontekście zaawansowania choroby nowotworowej – Doktorantka bowiem cytując badania Barczak i wsp. najpierw wskazuje, iż „ocena długości telomerów w leukocytach krwi może odpowiadać stopniowi zaawansowania raka gruczołu piersiowego”, po czym kilka wierszy dalej stwierdza, iż „zarówno w toku naszych badań, jak i prac przeprowadzonych przez Barczak i wsp. nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy długością telomerów w grupie pacjentek i kobiet zdrowych w populacji polskiej”. Są to jednak tylko drobne uwagi, które nie umniejszają ogólnie wysoce edukacyjnego charakteru tej części opracowania.

Cele badań zostały jasno sformułowane, a do ich realizacji Doktorantka wykorzystała właściwie dobrane techniki biologii molekularnej, w tym nowoczesną technikę emulsyjnej ilościowej analizy PCR, *ang. droplet digital PCR*. Przedstawione badania były realizowane zarówno w modelu *in vitro* z użyciem komercyjnie dostępnych linii nowotworów hematologicznych i guzów litych oraz linii komórek prawidłowych, jak i w modelu *ex vivo*, wykorzystując krew obwodową chorych z białaczką AML i CLL, a w przypadku pacjentek z nowotworem piersi, krew obwodową oraz fragment guza, pozyskany po jego chirurgicznym usunięciu. Metodologia badań została szczegółowo opisana w opublikowanych pracach oryginalnych, choć zdaniem recenzenta, dla jasności przekazu, jej skrócony opis powinien się znaleźć również w załączonym autoreferacie. W kontekście metodologii badań mam jedną uwagę, odnoszącą się do hodowli materiału tkankowego pochodzącego z guzów piersi (publikacja nr 4). Doktorantka materiał ten w hodowli nazywa „organoidem”, podczas gdy pojęcie to jest zarezerwowane dla modeli 3D nowotworów litych lub narządów, np. trzustki, wytworzonych w warunkach laboratoryjnych z grupy komórek, zawierających komórki macierzyste danej tkanki lub nowotworu, finalnie pozwalających na badanie wzajemnych interakcji pomiędzy różnymi typami komórek lub działania leków w obrębie guza lub narządu. W opisywanej przez Doktorantkę sytuacji możemy więc mówić o hodowlach tkankowych z guzów piersi, ale nie są to organoidy. Tym bardziej, iż hodowle te prowadzono do osiągnięcia 80% konfluentności (były to więc hodowle 2D), a komórki pozyskiwano poprzez zwykłą trypsynizację.

W rozdziale „Omówienie wyników badań” Doktorantka zwięźle przytoczyła rezultaty swoich badań opublikowanych w każdym z artykułów, podkreślając w nich odpowiednio rolę zmienności genetycznej genu TERT (w tym określonych mutacji i polimorfizmów pojedynczych nukleotydów) oraz rolę aktywności telomerazy i długości telomerów, czy to w kontekście różnic pomiędzy liniami komórek nowotworów hematologicznych i guzów litych, przeżywalnością pacjentów z AML, predyspozycją do zachorowania na CLL, czy wreszcie, w aspekcie oceny stopnia inwazyjności raka piersi. Ta część opracowania, pomimo iż dotyczy zawiłych aspektów genetyki została przedstawiona bardzo jasno i nie budzi wątpliwości. Wyniki z publikacji zostały podsumowane w 8 logicznych wnioskach. W odniesieniu do ostatniego wniosku mam jednak drobną uwagę. We wniosku tym Doktorantka postuluje, iż „zmienność genetyczna i ekspresja genu TERT, a także długość telomerów mogą być wykorzystane jako potencjalne biomarkery w nowotworach układu krwiotwórczego i nowotworach litych”. W tym kontekście mój sprzeciw budzi użycie pojęcia „biomarkery”,

które odnosi się do parametrów biologicznych o ściśle określonych cechach. W odniesieniu do opisanych parametrów możemy mówić jednak co najwyżej o przyszłych „markerach” ale nie „biomarkerach” konkretnych chorób. Uwaga ta ma jednak jedynie charakter porządkujący, gdyż jest to nadinterpretacja powszechnie spotykana w literaturze światowej.

### **Podsumowanie.**

Przedłożona do oceny rozprawa mgr Marty Dratwy jest istotnym opracowaniem na temat zmienności genetycznej podjednostki katalitycznej telomerazy TERT i wpływu tej zmienności na ekspresję genu i aktywność samego enzymu, a także długość telomerów w komórkach nowotworów hematologicznych i raka piersi. Problematyka badań przedstawionych w publikacjach oryginalnych oparta została na dogłębnej znajomości przedmiotu, popartej publikacją bardzo dobrego artykułu przeglądowego. We wszystkich artykułach Doktorantka pełniła wiodącą rolę. Wymienione w recenzji uwagi i komentarze mają w dużej mierze wyłącznie charakter porządkujący i bynajmniej nie umniejszają wysokiej wartości naukowej rozprawy, czego dowodem są wchodzące w jej skład artykuły w renomowanych czasopismach naukowych.

Podsumowując, stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr Marty Dratwy 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.595 z późn.zm.) w związku z art. 179 ust. 1 z dnia 3 lipca 2019 r. „Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn.zm.)”. W związku z powyższym, zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie mgr Marty Dratwy do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne. Ponadto, ze względu na bardzo wysoką wartość naukową publikacji wchodzących w skład przedmiotowej rozprawy wnioskuję o jej wyróżnienie.

Katedra Immunologii Klinicznej  
i Transplantologii UJ CM

  
dr hab. n. med. Jarosław Baran, prof. UJ

Kraków, 18.04.2023