

Prof. dr hab. Maciej Zabel
Katedra Histologii i Embriologii
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Hanny Kędzierskiej
pt. Wpływ czynnika splicingowego SRSF2 na regulację apoptozy
w raku nerkowokomórkowym typu jasnokomórkowego
u człowieka” wykonanej pod kierunkiem Promotora dr hab. n. med.
Agnieszki Piekiełko-Witkowskiej**

Do oceny przedstawiono oprawioną rozprawę doktorską zawierającą 133 strony maszynopisu oraz dwa obszerne suplementy.

Opracowywane w rozprawie zagadnienie należy uznać za oryginalne i nowatorskie. Przed kilkunastu laty fascynowano się wykazaniem istotnej roli apoptozy w procesie nowotworowym. Autorka poszła krok dalej i postanowiła zbadać znaczenie regulacji apoptozy w tym procesie. W tym celu zajęła się rolą czynnika splicingowego SRSF2 w regulacji alternatywnego składania genów związanych z apoptozą w raku jasnokomórkowym nerki. Wykorzystała tu wcześniejsze obserwacje nielicznych autorów, z których wynikały przesłanki do podjęcia tego tematu.

Wstęp pracy pokazuje bardzo dobre przygotowanie doktorantki, która sukcesywnie prowadzi nas od opisu apoptozy i raka nerki, poprzez omówienie alternatywnego składania, rolę czynników splicingowych w regulacji apoptozy w nowotworach do przedstawienia czynnika SRSF2 w ekspresji genów apoptoczących w nowotworach. Tak

skonstruowane wprowadzenie prowadzi nas do celu pracy, który dzięki temu jest oczywisty i zrozumiały. I było to zbadanie roli czynnika splicingowego SRSF2 w regulacji apoptozy w raku jasnokomórkowym nerki, w szczególności sprawdzenie, czy zaburzenia ekspresji, w tym głównie wyciszenie ekspresji tego genu może wpływać na aktywność kaspaz i apoptozę indukowaną i spontaniczną.

Poznanie biologii nowotworów od dawna budziło zainteresowanie naukowców, którzy zawsze korzystali z dostępnych metod i wiedzy. Początkowo były to metody proste. Obecnie stosuje się techniki bardzo zaawansowane, które umożliwiają molekularne podejście badawcze. Autorka zastosowała w swojej pracy cały szereg nowoczesnych metod, w tym klasyczne jak hodowle komórkowe, izolacje kwasów nukleinowych amplifikacje DNA, RT-PCR, Western-Blot ale także bardziej wyrafinowane, m.in. transfekcje komórek prowadzące do wyciszania i wzmacniania ekspresji genów.

Metody te zostały skrupulatnie opisane, zarówno w zakresie stosowanych odczynników, jak i samej procedury. Część z tych metod nie wymagała tak szerokiego opisu, gdyż w ostatnich latach uważa się już je za metody klasyczne, np. procedura zamrażania i rozmrażania komórek hodowlanych. Badania przeprowadzono na odpowiednio licznych materiale, na czterech liniach komórkowych oraz materiale pochodzącym od 32 pacjentów (nowotwór i tkanka zdrowa).

Podobnie jak poprzednie rozdziały, także wyniki przedstawiono bardzo szczegółowo w postaci logicznych rozdziałów i podrozdziałów, w których przedstawiono także interpretację i podsumowania, co znacznie ułatwiło ich analizę. Wśród wielu cennych spostrzeżeń wyróżnić można w zasadzie te, które sama doktorantka przedstawia w rozdziale podsumowanie i wnioski. Dla mnie bardzo istotne wydają się wyniki uzyskane na liniach komórkowych ccRCC, w których wykazano, że SRSF2

powoduje zmiany w alternatywnym składaniu kilku genów biorących istotną rolę w apoptozie a także genów promujących lub hamujących wejście komórki na drogę apoptozy. Stwierdzono także, że wyciszenie ekspresji SRSF2 obniża ekspresję kilku istotnych cząsteczek szlaku zewnątrz i wewnątrzkomórkowej inicjacji apoptozy. Wyniki opisane na liniach komórkowych znajdują swoje wytłumaczenie w obserwacjach tych nowotworów u pacjentów i jak słusznie zauważa autorka, obniżenie ekspresji SRSF2 w ccRCC chroni te komórki przed apoptozą i być może także zwiększa ich oporność na leki cytostatyczne.

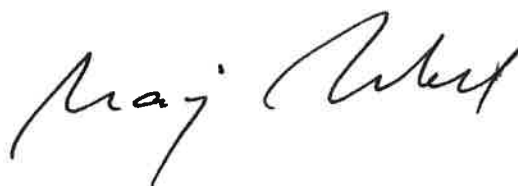
Dyskusja pracy pokazuje dojrzałość naukową doktorantki, umiejętności dyskusji naukowej i wyciągania odpowiednich wniosków. Cytowana literatura jest wyjątkowo obszerna (prawie 300 pozycji) i odbiciem wnikliwego opracowania zagadnienia i metodyki.

Przedstawiona rozprawa oparta jest na dwóch publikacjach, w których doktorantka jest pierwszym autorem, co wskazuje na jej wiodącą rolę. Obie prace są załączone do opracowania i są opublikowane w znanych i cenionych czasopismach międzynarodowych. Jedna z nich to praca oryginalna a druga pogładowa. Ponadto jest ona współautorką czterech prac oryginalnych, wszystkie o wysokim IF. Zaznaczyć też należy, że mgr H. Kędzierska pracuje w znanym i znakomitym zespole prowadzonym przez Prof. Alicję Macke-Nauman i doc. Agnieszkę Piekiełko-Witkowską, co umożliwiło jej wykonanie tej pracy a ona z kolei potrafiła to znakomicie wykorzystać i opracować wzorową rozprawę.

Przedstawioną rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko, gdyż jest wyrazem przemyślanej koncepcji, jest wzorowo wykonana i podsumowana w merytorycznej dyskusji. Dlatego zwracam się do Rady Naukowej Centrum Medyczne Kształcenia

Podyplomowego w Warszawie o prowadzenie dalszego postępowania w sprawie nadania mgr Hannie Kędzierskiej stopnia doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy pt. Wpływ czynnika splicingowego SRSF2 na regulację apoptozy w raku nerkowokomórkowym typu jasnokomórkowego u człowieka”.

Uważam ponadto, że rozprawa zasługuje na wyróżnienie.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Przemysław Witek". The signature is written in a cursive, flowing style.

Poznań, 12. 06. 2017