



## SPOŁECZNA AKADEMIA NAUK ŁÓDŹ

**Prof. zw. dr hab. Adam Jaworski**

Łódź, 20. 02. 2019

Emerytowany profesor zw. Uniwersytetu Łódzkiego

obecnie

Spółeczna Akademia Nauk w Łodzi

**Ocena pracy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Szala - Poździej  
pt. „Wybrane lektyny odporności wrodzonej i związana z nimi  
proteaza serynowa MASP-2 w nowotworach jajnika.**

Praca doktorska mgr Agnieszki Szala-Poździej została wykonana w Pracowni Immunobiologii Zakazań, Instytutu Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi pod kierunkiem Dr hab. Macieja Cedzyńskiego. Badania poznawcze opisane w niniejszej monografii doktorskiej były finansowane ze środków MNiSW przyznanych na realizację projektu badawczego „*Miejscowa synteza, mechanizmy jej regulacji oraz zmiany ekspresji wybranych lektyn i proteazy serynowej MASP-2 w nowotworach jajnika*”. Dodać należy, że wielokierunkowe, molekularne i genetyczne badania materiałów klinicznych od 340 kobiet zostały zrealizowane w ścisłej współpracy z doświadczonymi specjalistami w dziedzinie ginekologii onkologicznej i histopatologii z Kliniki Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Dr hab. Sambora Sawickiego, Dr hab. Dariusza Wydry i Dr Andrzeja Kałużyńskiego, a także specjalisty, biologa molekularnego z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, prof. dr hab. Janusza Szemraja.

Rozprawa doktorska mgr Agnieszki Szala- Poździej została starannie opracowana w postaci bardzo obszernej monografii (224 strony), w sposób typowy dla prac w dziedzinie nauk biologicznych i medycznych. Obejmuje bardzo rozbudowaną część teoretyczną *Wstęp* (45 stron), jasno sformułowany, kierunkowy *Cel pracy*, rozpisany na cztery kolejne zadania badawcze, *Materiały i Metody* (razem 30 stron), *Wyniki* (81 stron), *Dyskusję* (16 stron). Dobrym pomysłem było opracowanie dwustronicowego *Podsumowania* wyników oraz siedmiu *Wniosków* końcowych. Rozprawę zamyka spis aż 387 pozycji (!) cytowanej literatury. Jest dla mnie aż mało prawdopodobnym, że Doktorantka przestudiowała, przeczytała uważnie aż tak dużą liczbą prac Ponadto, nie jestem przekonany, że do napisania teoretycznego wstępu pracy doktorskiej, koniecznym było przestudiowanie kilkuset prac, bo *Wstęp* doświadczalnej pracy doktorskiej nie jest przecież tematyczną monografią. Ocenianą rozprawę doktorską uzupełniają dobrze napisane *Streszczenia* w języku polskim i angielskim, a także informacja o dotychczasowym dorobku publikacyjnym, na który składają się 3 zespołowe prace doświadczalne opublikowane w latach 2013/2014 w czasopismach z listy JCR (*Cancer Immunol Immunother*, 2014, *Immunogenetics*, 2013, *Cancer Immunol Immunother* 2013, w których jest, odpowiednio, drugim i pierwszym autorem. Wyniki opisane w tych pracach, były także prezentowane na konferencjach naukowych organizowanych w Niemczech, Grecji i w Czechach. Upowszechnione w międzynarodowym



obiegu naukowym rezultaty stanowią, jak pisze Doktorantka, część wyników przedstawionych w Jej monografii doktorskiej. Dodam, że cała praca doktorska została napisana ładną polszczyzną i poprawnym językiem naukowym.

Bardzo obszerna część teoretyczna monografii doktorskiej została opracowana w postaci 5 rozdziałów, z których każdy składa się z logicznie uporządkowanych podrozdziałów. Treści zawarte w tych rozdziałach i podrozdziałach są podporządkowane tematowi i celom pracy doktorskiej. I tak, w pierwszym rozdziale mgr Agnieszka Szala - Poździej omawia dane literatury światowej i polskiej na temat epidemiologii raka jajnika, objawów choroby i diagnostyki, czynników sprzyjających rozwojowi tego raka, przedstawia także stopnie zaawansowana w rozwoju nowotworów jajnika oraz ich charakterystykę histopatologiczną. W kolejnych rozdziałach i podrozdziałach Doktorantka przedstawiła, z bardzo dużym znanstwem, aktualną wiedzę na temat złożonego układu dopełniacza, istotnego elementu odporności zakaźnej, który w świetle zgromadzonej wiedzy uczestniczy w wielu innych procesach, takich jak usuwanie komórek ulegających nekrozie i apoptozie, wzmaganie proliferacji komórek, aktywacji protoonkogenów, ale także eliminacji komórek nowotworowych poprzez formowanie kompleksu ataku błonowego i lizy komórek. Następnie szczegółowo scharakteryzowała szlaki aktywacji układu dopełniacza na drodze klasycznej, alternatywnej oraz lektynowej, koncentrując szczególną uwagę na roli biologicznej lektyn, fikolin i protez MASP jako czynników odporności wrodzonej, w tym ich znaczeniu w nowotworach i chorobach układu rozrodczego. Dużo miejsca poświęciła charakterystyce genów kodujących lektynę wiążącą mannozę (MBL), fikolinę-2 (FCN2), fikolinę-3 (FCN3) oraz proteazę serynową MASP-2 (MASP2), wskazując na wpływ tych polimorfizmów na stężenia i aktywność syntetyzowanych białek.

Ze szczególnym zainteresowaniem przestudiowałem jednak podrozdziały 2. 4, 2.4.5, 2.5.1.5, 2.5.2.5, 2.6.2.5, w których mgr Agnieszka Szala - Poździej przedstawiła interesujące dane literatury światowej, ale wciąż bardzo skąpe, na temat, odpowiednio, „*Roli układu dopełniacza w eliminacji komórek nowotworowych i w nowotworzeniu*” oraz „*Znaczenia klinicznego lektyny wiążącej mannozę MBL, fikoliny-2 oraz fokoliny-3, a także proteazy serynowej MASP-2 w chorobach układu rozrodczego, nowotworach jajnika .i innych chorobach nowotworowych*”.

*W treściach tych podrozdziałów poszukiwałem dobrze udokumentowanych informacji, uzasadniających podjęcie bardzo ambitnego celu pracy doktorskiej mgr Agnieszki Szali-Poździej, który osobiście uznaję za poważne wyzwanie naukowe. Wyniki dobrze zaplanowanych badań poznawczych miały bowiem odpowiedzieć na pytanie, czy wyżej wymienione czynniki odporności wrodzonej mogą istotne znaczenie w nowotworach jajnika, a zatem czy mogą być rozważane jako potencjalne markery molekularne we wczesnej diagnostyce klinicznej tej bardzo groźnej choroby nowotworowej.*

W zakończeniu oceny części teoretycznej pracy doktorskiej mgr Agnieszki Szali-Poździej chciałbym powiedzieć, że dla mnie biologa molekularnego, ale nie immunobiologa, przestudiowanie tego ogromnego rozdziału, na miarę tematycznej monografii, było niemałym wyzwaniem, ale także pouczającym. Sądzę jednak, że ograniczenie zakresu tego rozdziału do tematyki bardzo ściśle związanej z tematem i celem pracy doktorskiej, to jest znanej oraz sugerowanej roli czynników układu dopełniacza i odporności wrodzonej w różnych nowotworach, byłoby lepszym rozwiązaniem. Z drugiej strony, Doktoranta poprzez opracowanie tego rozdziału dowiodła, że w tej trudnej dziedzinie immunologii ma głęboką i aktualną wiedzę. Stąd, proponowałbym, aby Doktorantka i Promotor rozważyli możliwość opublikowania wartościowej monografii/artykułu naukowego w języku angielskim, o ile takiej czy podobnej publikacji nie ma w dostępnej literaturze naukowej



Nie mam żadnych uwag krytycznych zarówno do sposobu opracowania, jaki i treści tego rozdziału. Zastosowane techniki i molekularne metody analizy materiałów klinicznych (krwi obwodowej, surowicy i wycinków jajników) pobranych od 340 kobiet, pacjentek rekrutowanych w Klinice Ginekologii i Onkologii Ginekologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, są nowoczesne i prawidłowo dobrane. Wiem dobrze, że w Pracowni Immunobiologii Zakażeń Instytutu Biologii Medycznej w Łodzi nowoczesny, wciąż wzbogacany warsztat naukowy, jest od lat wykorzystywany, z bardzo dużym powodzeniem, do molekularnych badań na poziomie genów i ich produktów białkowych. Stąd, techniki genotypowania, analizy polimorfizmów i sekwencjonowania ludzkich genów, analizy ich aktywności na poziomie mRNA, a także pomiary zawartości oraz aktywności różnych białek komórkowych, są rutynowo stosowane przez pracowników naukowych, doktorantów i studentów. Nie mam zatem żadnych wątpliwości, że doświadczalne wyniki udokumentowane i opisane w pracy doktorskiej mgr Agnieszki Szali - Poździej są wiarygodne, zaś dobrze zaplanowane grupy badawcze i grupa kontrolna pacjentek, wraz z przeprowadzonymi analizami statystycznymi, pozwoliły na naukową, krytyczną interpretację wszystkich uzyskanych rezultatów i sformułowanie uprawnionych, aczkolwiek bardzo ostrożnych wniosków końcowych.

Nie jestem w stanie ocenić „morza” uzyskanych przez Doktorantkę wyników, bardzo dobrze udokumentowanych i opisanych na 81 stronach rozprawy, poddanych następnie wnikliwej, krytycznej analizie, na tle danych literatury światowej, w świetnie napisanej *Dyskusji*. Nie dostrzegam takiej potrzeby, bowiem znaczna część najważniejszych wyników rozprawy doktorskiej zostało upowszechnionych w międzynarodowym obiegu naukowych w postaci wcześniej wymienionych 3 prac doświadczalnych w czasopismach z listy JCR, a więc podlegały już wnikliwej ocenie, dokonanej przez recenzentów i edytorów tych specjalistycznych czasopism naukowych. Ponadto, nie jestem lekarzem, specjalistą w dziedzinie onkologii ginekologicznej, a stąd ocenę znaczenia wielu uzyskanych i opisanych w pracy rezultatów dla prognozowania, diagnostyki klinicznej i terapii nowotworów jajnika - pozostawiam recenzentom, specjalistom w tej dziedzinie nauk medycznych.

Jako biolog molekularny bardzo wysoko oceniam rangę naukową podjętych i przeprowadzonych badań poznawczych, które przyniosły wiele nowych wyników, obserwacji i sugestii na temat znaczenia badanych czynników odporności wrodzonej w nowotworach jajnika. Jednak jednoznaczna interpretacja znacznej części uzyskanych rezultatów jest trudna, z racji zbyt małych grup badawczych pacjentek, przy tym bardzo zróżnicowanych zarówno genotypowo i fenotypowo ze względu na badane polimorfizmy analizowanych genów, zawartość oraz aktywność kodowanych przez nie białek, a także wiek pacjentek i stopień zaawansowania choroby nowotworowej jajnika. Po uważnym przestudiowaniu całego rozdziału *Wyniki*, bardzo dobrze napisanej, krytycznej *Dyskusji* oraz siedmiu ostrożnych *Wniosków* końcowych zgadzam się ze stwierdzeniem Doktorantki sformułowanym w *Dyskusji* że „*Mimo obserwowanych, znaczących statystycznie różnic niektórych badanych parametrów, przydatność badań lektyny wiążącej mannozę, proteazy MASP-2, aktywności ich kompleksów oraz polimorfizmów i ekspresji badanych genów - w diagnostyce raka jajnika, należy uznać za ograniczoną*”. Bardzo interesujące wyniki, moim zdaniem, uzyskano w badaniach poziomu fikoliny-2 i fikoliny-3 w surowicach pacjentek, a szczególnie ekspresji genu FCN3 na poziomie swoistego mRNA w wycinkach jajników. Okazało się, że poziom ekspresji genu FCN3 był znacząco niższy w próbach pochodzących z narządów, w których rozwinęły się guzy złośliwe, w porównaniu z ekspresją w próbach pobranych z jajników niezmiennych. Zatem, postawiono uprawniony wniosek, że na podstawie oznaczania ekspresji genu fikoliny-3, na poziomie mRNA w wycinkach jajnika. można byłoby z wysoką czułością i specyficznością różnicować próby pochodzące



od kobiet chorych na raka jajnika i kobiet bez nowotworów tego typu. Na uwagę zasługuje również obserwacja, że u kobiet, u których rozwinęły się guzy złośliwe, niższe stężenie fikoliny-2 w surowicy prognozuje prawdopodobieństwo przeżycia o około 36 miesięcy po zabiegu, w porównaniu z kobietami, u których poziom tego białka był wysoki i przekraczał 3800ng/ml. Jak pisze Doktorantka, oznaczanie przedoperacyjnego stężenia fikoliny-2 w surowicy pacjentek, z potwierdzoną chorobą nowotworową jajnika, można rozważyć jako wskaźnik prognostyczny, ale raczej nie jako biomarker raka jajnika.

W zakończeniu mojej recenzji rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Szali- Poździej chciałbym przywołać sformułowane, bardzo ambitny cel pracy doktorskiej i ocenić w jakim stopniu udało się go zrealizować. I tak, cyt. „*Celem pracy doktorskiej była ocena znaczenia wybranych czynników odporności wrodzonej: lektyny wiążącej mannozę, fikoliny-2, fikoliny-3 i proteazy MASP-2 w nowotworach jajnika i ich potencjalnej przydatności jak biomarkerów raka tego narządu*”.

Stwierdzam z pełnym przekonaniem, że takiej oceny dokonano w sposób profesjonalny, z wykorzystaniem nowoczesnych metod i technik. Wskazano, w oparciu o bardzo dobrze udokumentowane wyniki na te czynniki odporności wrodzonej, których wykorzystanie jako specyficznych biomarkerów raka jajnika jest mało prawdopodobne, ale jako markerów pomocniczych, po dalszych, głębszych badaniach, uznano za możliwe. Ponadto, wskazano na fikolinę-2 i fikolinę-3 jako możliwe, przydatne markery prognostyczne i różnicujące. Zatem tak sformułowane cele pracy doktorskiej mgr Agnieszka Szala- Poździej zrealizowała, powiedziałbym w 100 %.

Z ciekawości naukowej chciałbym jednak zapytać mgr Agnieszkę Szalę- Poździej oraz promotora, doc. dr hab. Macieja Cedzyńskiego, na ile realizacja tej ambitnej pracy doktorskiej oraz uzyskane wyniki i publikacje, przyniosły Im naukową satysfakcję, a na ile także różne obawy i stresy?

***W oparciu o dokonaną analizę rezultatów przedstawionych w rozprawie doktorskiej Pani mgr Agnieszki Szali-Poździej, a także wyników opublikowanych w trzech zespołowych pracach w czasopismach z listy JCR, stwierdzam, że oceniana praca doktorska spełnia wszystkie formalne i naukowe wymogi Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki - stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk biologicznych. Z pełnym, naukowym przekonaniem wnoszę więc do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Biologii Medycznej, Polskiej Akademii Nauk w Łodzi - o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Szali-Poździej do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.***

***Wnoszę także do Wysokiej Rady o rozważenie możliwości stosownego wyróżnienia tej bardzo wartościowej pracy doktorskiej, ze względu na podjęcie nie tylko bardzo ważnego tematu o charakterze poznawczym, ale także z uwagi na wartość naukową uzyskanych wyników, w tym upowszechnionych w międzynarodowym obiegu naukowym w postaci 3 wartościowych prac doświadczalnych.. Wyrażam także przekonanie, że nakreślone w Dyskusji pracy plany dalszych badań uzyskają odpowiednie wsparcie finansowe i będą realizowane. Dodam, że mgr Agnieszka Szala-Poździej jest współautorem także innych 14 zespołowych prac doświadczalnych opublikowanych w latach 2007-2018 przez Zespół dr hab. Macieja Cedzyńskiego i dr hab. Anny Świerzko w specjalistycznych czasopismach z listy filadelfijskiej (Clin. Exp. Immunol., 2007i 2016; Mol. Immunol., 2009 (3 prace) i 2011; Arch. Immunol. Ther. Exp, 2009; Human Immunol., 2009; Scand. J. Gastroenterol., 2011; Immunobiology, 2012; Cell Mol. Immunol., 2015; Immunobiol., 2016 (2 prace); Front. Immunol., 2018.***