

Olsztyn, 21 styczeń 2019 r.

Recenzja Rozprawy Doktorskiej

mgr Bartłomiej Taciak

pt. „Ocena fenotypowej i funkcjonalnej stabilności linii komórkowej RAW 264.7 i wpływ makrofagów oraz analogów migrastatyny na szlak Wnt w komórkach nowotworowych”

Badania prowadzone przez Doktoranta miały za zadanie ocenić fenotypową i funkcjonalną stabilność linii komórkowej RAW 267.7, jak również wpływ makrofagów oraz analogów migrastatyny na szlakach Wnt w komórkach linii nowotworowej.

Choroby nowotworowe są coraz bardziej powszechne i dotyczą zarówno ludzi młodych, jak i starszych. Z publikowanych statystyk wynika, że w Polsce obecnie to właśnie nowotwory są przyczyną około 20% wszystkich zgonów, w tym około 40% zgonów u kobiet w wieku 45-65 lat i 30% zgonów u mężczyzn w wieku 45-65 lat. Jak wskazują badania, dynamika wzrostu liczby zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce przewyższa wzrost liczby ludności. W Polsce ilość zachorowań na nowotwory należy do najwyższych w Europie. Dlatego działania zmierzające do poznania mechanizmu wzajemnych interakcji komórek nowotworowych z komórkami układu odpornościowego są niezwykle istotne.

Linia komórkowa RAW 267.7 jest szeroko wykorzystana w różnych badaniach naukowych, jednak uzyskane wyniki mogą być trudne do porównania, ze względu na zmiany zachodzące w czasie tzn. ilość pasaży może wpływać na zmiany w ich fenotypie, genetyce, itp. Linia komórkowa RAW 264.7 użyta w badaniach, jest jedną z najczęściej stosowanych linii komórek od ponad 40 lat. Pomimo swojej fenotypowej i funkcjonalnej stabilności często dyskutuje się w literaturze lub na różnych panelach naukowych, o jej ewentualnych zmianach w stabilności fenotypowej i genetycznej podczas kolejnych pasaży, jednak te wątpliwości nie zostały potwierdzone w żadnym solidnym badaniu, a to może mieć wpływ na wiarygodność uzyskanych danych. Dlatego Doktorant zajął się tym ciekawym tematem, aby ustalić jak linia komórkowa RAW 264.7 zmienia się w trakcie kolejnych pasaży, między innymi pod względem fenotypu i funkcjonalnej stabilności. Komórki były hodowane od pasażu 3 do pasażu 50, a co 5 pasaży były testowane funkcjonalnie. Badano ekspresję genów kodujących markery makrofagów, zdolność do fagocytozy i produkcji azotu. Większość badanych markerów zachowała jednolity poziom do pasażu 30. Badania Doktoranta wykazały, że linia komórkowa RAW 264.7 może być stosowana w badaniach do 30 pasażu, bez wpływu na wiarygodność danych.

Kolejnym tematem zainteresowań doktoranta było określenie wpływu analogów migrastatyny na zdolność migracyjną ludzkich komórek raka piersi. Badania pozwoliły na ustalenie nietoksycznej dawki tego silnego inhibitora właściwości migracyjnych dla komórek nowotworowych (liniaMDA-MB-36), co może być w przyszłości wykorzystane w dalszych badaniach podstawowych, z użyciem modeli zwierzęcych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Bartłomieja Taciaka posiada następujący układ, który obejmuje streszczenie w języku polskim, angielskim, listę publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, wprowadzenie, cel pracy, metodykę i materiały, syntetyczny opis uzyskanych wyników, podsumowanie, piśmiennictwo oraz załączone publikacje składające się na rozprawę doktorską.

Rozprawa doktorska mgr Bartłomieja Taciaka stanowi cykl trzech prac opatrzony wspólnym tytułem pt. „Ocena fenotypowej i funkcjonalnej stabilności linii komórkowej RAW 264.7 i wpływ makrofagów oraz analogów migrastatyny na szlak Wnt w komórkach nowotworowych”;

1. Taciak B, Białasek M, Braniewska A, Sas Z, Sawicka P, Kiraga Ł, Rygiel T, Król M. Evaluation of phenotypic and functional stability of RAW 264.7 cell line through serial passages. PLoS One. 2018 Jun 11;13(6):e0198943. doi: 10.1371/journal.pone.0198943.
2. Taciak B, Pruszyńska I, Kiraga L, Białasek M, Król M. Wnt signaling pathway in development and cancer. J Physiol Pharmacol. 2018 Apr;69(2). doi: 10.26402/jpp.2018.2.07.
3. Gabba A, Robakiewicz S, Taciak B, Ulewicz K, Brogini G, Rastelli G, Król M, V. Murphy PV, Passarella D. Synthesis and Biological Evaluation of Migrastatin Macrotriazoles. Eur. J. Org. Chem., 2017, :60-69. doi.org/10.1002/ejoc.201600988

Dwie prace były opublikowane w 2018 roku, a jedna w 2017. W dwóch publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, a w trzeciej Doktorant jest współautorem na trzeciej pozycji. Łączna punktacja Impact Factor przedstawionego cyklu trzech publikacji będących przedmiotem rozprawy doktorskiej wynosi 8,523, a w punktach MNiSW 95. Wszystkie publikacje wchodzące w skład cyklu są wynikiem współpracy wielu autorów. Doktorant udokumentował rzetelnie swój udział w poszczególnych pracach zgodnie z przyjętymi wymogami dla tego typu prac. Cykl prac składa się z jednej pracy pogładowej wprowadzającej czytelnika w aktualny stan wiedzy związany z badaniami oraz dwóch prac oryginalnych.

We wniosku końcowym stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Bartłomieja Taciaka pt. „Ocena fenotypowej i funkcjonalnej stabilności linii komórkowej RAW 264.7 i wpływ makrofagów oraz analogów migrastatyny na szlak Wnt w komórkach nowotworowych” stanowi nowatorskie badanie naukowe o czym świadczą uzyskane wyniki opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej. Mgr. Bartłomiej Taciak podjął w swojej rozprawie temat o bardzo dużym znaczeniu z punktu widzenia ustalenia standardów warunków hodowli badanej linii komórkowej na potrzeby przyszłych badań.

Przyjęcie wypracowanego standardu hodowli przez inne laboratoria, przyczyni się do tego, że uzyskane wyniki będą wiarygodne przez swoją porównywalność. Doktorant sumiennie udokumentował w swojej rozprawie wiedzę, znajomość problematyki wpływu makrofagów (RAW 264.7) na zmiany zachodzące na poziomie szlaku Wnt, jak również wpływ inhibitora migracji na szlak Wnt w komórkach nowotworowych oraz umiejętność warsztatu naukowego i pisanie manuskryptów.

W mojej ocenie stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Bartłomieja Taciaka w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (D.U. 2016 poz. 882 z późn.zm). W związku z powyższym składam przed Wysoką Radą Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, wniosek o dopuszczenie Mgr Bartłomieja Taciaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na fakt, że praca wnosi znaczący nowatorski wkład w dotychczasową wiedzę, wyróżnia się oryginalnością, a uzyskane wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, składam do Wysokiej Rady Naukowej Wydziału wniosek o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.

Janina Wojtkiewicz