



15-230 Białystok
ul. Mickiewicza 2A
skr. pocztowa 15

**UNIWERSYTET MEDYCZNY
W BIAŁYMSTOKU
ZAKŁAD ANATOMII PRAWIDŁOWEJ CZŁOWIEKA**

Kierownik: Prof. dr hab. Janusz Dzieciot



tel. (+48) 85 748 5661
tel/fax. (+48) 85 748 5664
e-mail: anatomia@umb.edu.pl

Białystok 25.09.2015 roku

OCENA

rozprawy doktorskiej magister Irminy Grzegorek

„Charakterystyka komórek LAM limfangioleiomiomatozy płucnej”

Uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z dnia 17 września 2015 roku została mi powierzona ocena rozprawy doktorskiej magister Irminy Grzegorek, przeprowadzonej pod kierunkiem prof. dr hab. Piotra Dziegiela.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska Pani mgr Irminy Grzegorek oparta jest na trzech publikacjach: „LAM cells biology and lymphangioleiomyomatosis”, „Characterization of cells cultured from chylous effusion from a patient with sporadic lymphangioleiomyomatosis” i „Immunohistochemical evaluation of pulmonary lymphangioleiomyomatosis”. Wszystkie prace zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych, a ich łączna wartość punktowa wynosi 4,652 IF i 55 MNiSW/KBN. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem.

Opublikowane prace naukowe tworzące rozprawę doktorską stanowią monotematyczny ciąg publikacji, zmierzający do usystematyzowania wiadomości na temat biologii komórek LAM, określenie ich fenotypu, wykazania możliwości ograniczenia ich proliferacji, oceny zdolności tworzenia ognisk przerzutowych oraz określenia ich profilu immunohistochemicznego.

W pracy „LAM cells biology and lymphangioleiomyomatosis” opublikowanej w „Folia Histochemica et Cytobiologica”, mgr Irmina Grzegorek przedstawiła biologię komórek LAM, częstość występowania, czynniki wpływające na ich proliferację oraz mechanizm powstawania przerzutów. Opisała zmiany destrukcyjne tkanki płucnej występujące w przebiegu limfangioleiomiomatozy. Wskazała na heterogenność

populacji komórek LAM zarówno w zakresie morfologii jak i profilu immunohistochemicznego. Występujące zróżnicowanie może wynikać z oddziaływania na komórki LAM mikrośrodowiska otaczającej tkanki, cytokin jak i interakcji z innymi komórkami.

Występujące trudności w precyzyjnym określeniu charakteru komórek LAM Doktorantka próbowała wyjaśnić w oparciu o badania własne, których wyniki przedstawiła w pracy opublikowanej w „Anticancer Research” - „Characterization of cells cultured from chylous effusion from a patient with sporadic lymphangioleiomyomatosis”.

W oparciu o hodowlę komórek S-LAM1 uzyskanych od pacjentki z izolowaną postacią LAM wykonała badania metodą immunofluorescencji, cytometrii przepływowej, image stream system, PCR i badaniami ultrastrukturalnymi w mikroskopie elektronowym transmisyjnym. Oceniała także wpływ rapamycyny, naturalnego inhibitora kinazy mTOR, na komórki S-LAM1.

W wyniku przeprowadzonych badań potwierdziła zróżnicowaną biologią komórek LAM, wykazującą cechy charakterystyczne dla komórek mięśni gładkich, melanocytów, komórek endotelialnych naczyń chłonnych, komórek mezenchymalnych oraz aktywność genów między innymi EZR, MYH10, MYLK i obniżoną ekspresję SVIL. Działanie rapamycyny charakteryzowało się ograniczoną zdolnością hamowania komórek S-LAM1.

Uzyskane wyniki potwierdza bardzo dobrej jakości dokumentacja fotograficzna prezentująca pozytywne reakcje w badaniach immunofluorescencyjnych, image stream system i mikroskopie elektronowym.

W kolejnej pracy „Immunohistochemical evaluation of pulmonary lymphangioleiomyomatosis” mgr Irmina Grzegorek przeprowadziła ocenę komórek w przebiegu LAM w oparciu o materiał histopatologiczny. Badania dotyczyły 15 chorych, w tym jednego przypadku z postacią TSC-LAM. W swoich badaniach Doktorantka uwzględniła trzy stopnie klinicznego zaawansowania choroby. Badania oparte były o ocenę wycinków tkankowych metodami immunohistochemicznymi i metodą FISH.

Mgr Irmina Grzegorek wykazała między innymi zróżnicowaną ekspresję EGFR w komórkach LAM, którą stwierdziła w 15 badanych przypadkach. Ekspresja

ta była szczególnie nasiloną u chorych z większym stopniem zaawansowania choroby. Jest to szczególnie interesujące z uwagi na brak amplifikacji genu EGFR u wszystkich badanych chorych.

W oparciu o przeprowadzone badania komórek LAM i przedstawione w trzech omawianych publikacjach wyniki badań Doktorantka sformułowała siedem wniosków.

Są one odpowiedzią na postawione cele pracy. W mojej ocenie najistotniejszy jest wniosek trzeci wykazujący, że „...podwyższona ekspresja EZR, MYH10 i MYLK oraz jednocześnie mocna obniżona ekspresja SVIL, wskazuje na wysoki potencjał komórek S-LAM1 do migracji i może być jednym z mechanizmów tłumaczących metastatyczny charakter tych komórek”. Proponuję połączenie wniosku czwartego i szóstego w jeden.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska magister Irminy Grzegorek stanowiąca trzy prace naukowe opublikowane w renomowanych czasopismach jest opracowaniem niezwykle cennym. Dotyczy rzadko rozpoznawanej jednostki chorobowej. Doktorantka w sposób zaplanowany przedstawiła informacje na temat limfangioleiomyomatozy, a następnie przeprowadziła bardzo pracochłonne i czasochłonne badania własne weryfikujące dotychczasową wiedzę na temat LAM. Uzyskane wyniki mają istotne znaczenie praktyczne. Doktorantka wykazała się gruntowną znajomością tematu i umiejętnością samodzielnego rozwiązywania zadania badawczego. Potwierdzeniem tego są prace opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych.

Przedstawioną do oceny rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko. Realizacja zaplanowanych badań wymagała bardzo dużego wkładu pracy i wiedzy zarówno medycznej jak i laboratoryjnej. Rozprawa doktorska magister Irminy Grzegorek spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami).

Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie magister Irminy Grzegorek do dalszych etapów przewodu doktorskiego i jego wyróżnienie.