

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
Zakład Biochemii Lekarskiej

ul. A. Mickiewicza 2, 15-089 Białystok
tel. 85 748 55 78, faks 85 748 55 78
e-mail: zdbioch@umb.edu.pl



Wzrost 22.12.17

M. Podhorska-Okołów

Pracownik ds. Nauki

Białystok 5. 12. 2017

prof. dr hab. Marzanna Podhorska-Okołów

Ocena rozprawy doktorskiej mgr analityki **Pawła Serka p.t.: „Biochemiczna i immunologiczna charakterystyka porównawcza bakteryjnych białek enolazowych oraz ich rola receptorowa dla plazminogenu ludzkiego”**, wykonanej pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. Andrzeja Gamiana w Katedrze i Zakładzie Biochemii Lekarskiej, Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Enolaza jest enzymem powszechnie występującego szlaku glikolizy, w komórkach *eukariota* i *prokariota*. Badania ostatnich lat wykazały, że białko to a w zasadzie rodzina białek enolazowych pełni wiele, nie zawsze katalitycznych funkcji, w różnych komórkach. Aktualnie należy założyć, że enolaza jest białkiem wielofunkcyjnym. Wyeksponowana na powierzchni komórek pełni rolę receptora plazminogenu. Udowodniono, że enolaza reguluje proces transkrypcji niektórych protoonkogenów, pełni istotną rolę w procesie miogenezy, pełni funkcje ochronne w przebiegu szoku termicznego i stresu oksydacyjnego. Wpływa również na kumulację estrów cholesterolu w komórkach.

Niezmiernie ważny jest udział enolazy w procesach immunologicznych. Obecność enolazy na powierzchni licznych patogenów sprzyja syntezie przeciwciał, co może stanowić podłoże rozwoju chorób autoimmunologicznych. Większość z nich należy do grupy schorzeń o nieznannej etiologii. W rozwoju autoagresji ważne są uwarunkowania genetyczne oraz podobieństwa między antygenami mikroorganizmów a antygenami występującymi w organizmie człowieka.

O znaczącej i wszechstronnej roli enolazy świadczy fakt, że w niektórych typach nowotworów czy też w zmianach naczyniowych w przebiegu cukrzycy, białko to postrzegane jest jako biomarker.

Podjęcie zatem przez Doktoranta badań nad biochemiczną i immunologiczną charakterystykę bakteryjnych białek enolazowych uważam za przedsięwzięcie w pełni uzasadnione. Badania te tym bardziej są zasadne, że pochodzą z ośrodka, który od wielu lat zajmuje się podobną problematyką badawczą.

Doktorant postanowił ocenić własności molekularne i immunologiczne enolazy komórek bakteryjnych *Salmonella* Typhimurium, ocenić rolę tego białka w rozwoju chorób autoimmunizacyjnych i w inwazyjności tych bakterii.

Realizując swój projekt badawczy Doktorant dokonał:

- Izolacji i oczyszczenia cytozolowej i błonowej enolazy bakteryjnej *Salmonella* Typhimurium
- Oceny własności receptorowych błonowej enolazy bakteryjnej *Salmonella* Typhimurium
- Oceny właściwości immunogennych enolaz
- Oceny krzyżowych reakcji enolaz ludzkich i przeciwciał przeciwko enolazie bakteryjnej

Oceniana rozprawa obejmuje 94 strony maszynopisu oraz 263 pozycje piśmiennictwa, 17 rycin i 2 tabele. Jest podzielona na typowe rozdziały dla tego typu opracowań. Spis skrótów ułatwia wnikliwą analizę pracy.

We wstępie Autor przedstawia w sposób bardzo zwięzły dwa zagadnienia. Jedno dotyczy współczesnych informacji na temat budowy, własności i roli enolazy, a drugie – w sposób wyczerpujący przedstawia charakterystykę rodzaju *Salmonella*. Cel pracy jest krótki, jasno sprecyzowany. Metodologia pracy uwzględnia współczesne, odpowiednie metody do realizacji zadania badawczego. Na podkreślenie zasługuje ilość i zróżnicowanie, wcale nie łatwych metod biochemicznych i procedur stosowanych w immunologii. Uzyskane wyniki Doktorant przedstawił w sposób w czytelny na 16 rycinach i w 2 tabelach.

Obejmują one izolację i dwie procedury oczyszczania enolazy cytozolowej, ocenę wydajności tych procedur, wyznaczenie masy cząsteczkowej i optimum pH, izolację i oczyszczenie enolazy błonowej, izolację i oczyszczenie plazminogenu, ocenę zdolności enolazy błonowej do reakcji z plazminogenem. W kolejnej części wyniki prezentują odpowiedź królików na immunizację enolazą, badania reaktywności enolazy błonowej i cytozolowej *Salmonella* z przeciwciałami skierowanymi przeciwko enolazom ludzkim, reaktywność enolaz ludzkich z przeciwciałami anty bakteryjną enolaza cytozolowa *Salmonella* i *Klebsiella*, oraz wyniki badań immunoreaktywności enolazy bakteryjnej z surowicami pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów.

W obszernej dyskusji Doktorant uzasadnia celowość wykonywanych eksperymentów i konfrontuje wyniki badań własnych z obserwacjami innych autorów. Nadmiernie obszerny zestaw cytowanej literatury obejmuje właściwe proporcje pomiędzy piśmiennictwem współczesnym a archiwalnym. Podsumowaniem pracy jest pięć wniosków, podsumowujących rozprawę.

Oceniana rozprawa jest napisana poprawnym językiem, podczas jej lektury znalazłem nieliczne błędy edytorskie, zwłaszcza w rozdziale bibliografia – brak nazwy czasopisma (pozycja 220), niektóre pozycje nie zawierają opisu strony początkowej i końcowej.

W zasadzie nie mam zastrzeżeń merytorycznych, ale wnikliwa analiza treści rozprawy upoważnia do przedstawienia moich sugestii, które mogą być użyteczne w przygotowaniu publikacji do druku:

1. Proponuję opisy rycin umieszczać pod rycinami – w zdecydowanej większości literatury naukowej podpisy są pod rycinami.
2. Uważam, że opracowanie statystyczne wyników badań immunoreaktywności enolazy bakteryjnej z surowicami pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów zdecydowanie poprawiłoby czytelność ryciny 17 i tabeli II. Wedle jakich kryteriów podzielono miano IgG i IgM na wysokie, wyższe i niskie?
3. Skróciłbym rozdział ze wstępu – *leczenie zakażeń Salmonella i oporność na antybiotyki*, co pozwoliłoby jednocześnie ograniczyć ilość cytowanej literatury.

4. Nie przekonuje mnie opis ryciny 12. Autor podaje „*Na rycinie 12 pokazano wyniki absorbancji dla trzech rozcieńczeń surowicy króliczej*”. Z ryciny wynika że rozcieńczeń jest znacznie więcej.
5. Nie zgadzam się z treścią akapitu ze wstępu rozprawy (str. 15) „*Plazminogen jest jedną z najważniejszych zewnątrzkomórkowych proteaz (.....) Układ plazminogen/plazmina jest kluczowym regulatorem przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej.....*”
Moim zdaniem główna funkcja plazminy związana jest jednak z procesem fibrynolizy, a kluczowymi enzymami przebudowy macierzy są metaloproteiny macierzy pozakomórkowej. Plazmina ma znaczący udział w ich aktywacji, o czym pisze również Autor. Prawdą jest, że plazmina może bezpośrednio degradować tylko niektóre składniki macierzy pozakomórkowej.
6. Proponuję modyfikację wniosku 2, polegającą na usunięciu drugiej części zdania – *co wskazuje na jego udział w trawieniu macierzy zewnątrzkomórkowej*. Autor w dyskusji na str. 64 podaje „*dalsze badania powinny być ukierunkowane na sprawdzenie, czy związany plazminogen w obecności aktywatora tkankowego jest w stanie aktywować się do plazminy i tym samym brać udział w trawieniu macierzy*”. Druga część wniosku nie jest taka oczywista i nie wynika z badań Autora.

Powyższe moje sugestie i uwagi mają w większości jedynie charakter polemiczny, nie podważają merytorycznych założeń treści rozprawy doktorskiej.

Reasumując stwierdzam, iż oceniana praca została zaplanowana, wykonana i napisana poprawnie, świadczy o wiedzy, dociekliwości naukowej Doktoranta.

Uważam, iż, rozprawa doktorska mgr analityki **Pawła Serka p.t.: „Biochemiczna i immunologiczna charakterystyka porównawcza bakteryjnych białek enolazowych oraz ich rola receptorowa dla plazminogenu ludzkiego”**, spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 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 powyższym przedkładam Pani Dziekan i Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie wyżej wymienionego do kolejnego etapu przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Krzysztof Sobolewski