

**Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej**  
**Uniwersytet Medyczny w Lublinie**  
Lublin 20-093  
ul. Chodzki 4a  
tel. 817564811  
fax. 817564813  
Kierownik:  
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos



**Experimental Hematooncology**  
**Department**  
**Medical University**  
**of Lublin**  
**20-093 Lublin, POLAND**  
4a Chodzki St.  
tel. +48 817564811  
fax. +48 817564813  
Head:  
Prof. Krzysztof Giannopoulos

Lublin 10.11.2019

## **OCENA**

### **ROZPRAWY NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH**

**MGR INŻ. MARKA CIEŚLI**

#### **PT. "OCENA METYLACJI DNA I POLIMORFIZMÓW WYBRANYCH GENÓW ORAZ EKSPRESJI WYSELEKCYJONOWANYCH MIKRO-RNA U CHORYCH NA RAUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW"**

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest chorobą autoimmunologiczną z niewielką podgrupą przypadków o czystym fenotypie palindromicznym lub fenotypie ogólnoustrojowego zaburzenia autozapalnego. Kluczowa rola stanu zapalnego w jej patogenezie pozwoliła na opracowanie wysoce skutecznych strategii leczenia o szerokim zastosowaniu. Strategie te obejmują min.: zastosowanie czynników biologicznych ukierunkowanych na czynnik martwicy nowotworów, będący kluczowym mediatorem stanu zapalnego. Wraz z pojawieniem się skutecznych leków terapia stała się na tyle skuteczna, że choroba może być kontrolowana i możliwe jest uzyskanie remisji choroby u wielu pacjentów. Stosowanie obiektywnych miar aktywności choroby oraz identyfikacja biomarkerów odpowiedzi może w przyszłości pomóc w podejmowaniu decyzji dotyczących leczenia (personalizacja terapii) i prowadzić do lepszych wyników.

**Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej**  
**Uniwersytet Medyczny w Lublinie**  
**Lublin 20-093**  
ul. Chodzki 4a  
tel. 817564811  
fax. 817564813  
Kierownik:  
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos



**Experimental Hematooncology**  
**Department**  
**Medical University**  
**of Lublin**  
**20-093 Lublin, POLAND**  
4a Chodzki St.  
tel. +48 817564811  
fax. +48 817564813  
Head:  
Prof. Krzysztof Giannopoulos

W tę niezwykle ważną tematykę wpisuje się przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Marka Cieśli. Autor podjął się analizy metylacji i polimorfizmów genów *IRF5*, *SOCS3* i *IL6R* oraz regulujących je sekwencji mikroRNA – *miR-22* i *miR-221*.

Przedstawiona do recenzji rozprawa ma układ typowy dla tego typu opracowań. Liczy 80 stron maszynopisu, w tym 15 tabel i 14 rycin. Całość pracy opatrzona jest 102 pozycjami piśmiennictwa, z czego znaczna część pochodzi z ostatnich 5 lat, oraz opublikowana została w międzynarodowych, recenzowanych czasopismach, często wiodących w dziedzinie.

Wstęp poprzedzony został objaśnieniem stosowanych przez Autora skrótów. W liczącym 10 strony „Wstępie” Doktorant syntetycznie przedstawił aktualne dane dotyczące epidemiologii i patomechanizmu rzs. Doktorant omówił mechanizm regulacji epigenetycznej oraz w szczegółach opisał geny będące przedmiotem dalszych badań rozprawy doktorskiej.

W rozdziale „Materiał i Metody”, liczącym 12 stron, mgr Marek Cieśla opisuje stosowaną metodykę doświadczalną wraz ze wstępną analizą *in-silico* wyjaśniającą dobór mikroRNA do dalszych analiz. Badania przeprowadzone zostały przy wykorzystaniu materiału pochodzącego od 122 chorych na rzs i 24 osób z grupy kontrolnej. Do oceny metylacji genów, ekspresji mikroRNA oraz polimorfizmów genów Doktorant wykorzystał metodykę opartą o PCR. Opisowi metodyki towarzyszą ilustracje danych surowych, wskazujące na dobre opanowanie stosowanych metod badawczych.

W rozdziale „Wyniki” Autor przedstawia wyniki analizy metylacji i polimorfizmów genów *IRF5*, *SOCS3* i *IL6R* w zależności od charakterystyki klinicznej chorych na rzs. Do najważniejszych

**Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej**  
**Uniwersytet Medyczny w Lublinie**  
Lublin 20-093  
ul. Chodzki 4a  
tel. 817564811  
fax. 817564813  
Kierownik:  
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos



**Experimental Hematooncology**  
**Department**  
**Medical University**  
**of Lublin**  
**20-093 Lublin, POLAND**  
4a Chodzki St.  
tel. +48 817564811  
fax. +48 817564813  
Head:  
Prof. Krzysztof Giannopoulos

należy wykazanie, że u chorych na rzs występuje niższy stopień metylacji genu *IRF5* niezależnie od charakterystyki klinicznej choroby (aktywna choroba vs remisja). Poziom ekspresji *miR-22* był wyższy w rzs w porównaniu do grupy kontrolnej. Uzyskane wyniki zostały omówione w „Dyskusji”, która liczy 9 stron. Autor wykazał się dobrą znajomością przedmiotu, krytycyzmem wskazującym na ograniczenia uzyskanych wyników, obiektywizmem w ocenie wyników i umiejętnością trafnego wyprowadzania wniosków. Na podstawie uzyskanych wyników i przeprowadzonej dyskusji Autor formułuje cztery wnioski podsumowujące rozprawę doktorską.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania stawiane tego typu opracowaniom. Na pewno mocnym elementem rozprawy jest wstępna analiza bioinformatyczna na podstawie której określono mikroRNA charakteryzowane w dalszej części badań. Jest to bardzo dobry zabieg, bo rozprawa nie zawiera badań czynnościowych więc wykazane korelacje mogłyby być przypadkowym, istotnym statystycznie wynikiem bez żadnego związku przyczynowo-skutkowego. Mocnym elementem rozprawy jest też odniesienie się do klinicznych parametrów grupy badanej. Niewątpliwie praca przed przygotowaniem do publikacji zyskałaby ze zwiększenia liczebności zarówno grupy badawczej jak i kontrolnej. Szczególnie wyniki dotyczące polimorfizmów wymagają znacznie większych grup, bądź wstępnej oceny statystycznej wielkości grupy. Uwagi dotyczą również strony edytorskiej pracy: literówki, używanie sformułowań potocznych lub niepoprawnych językowo, np.: metothrexat zamiast metotreksat, mix wymiennie z prawidłowym miks. Wydaje się niepotrzebne wprowadzanie skrótu RT-MSP mimo, że RQ-MSP jest tożsamy i wprowadzony na tej samej stronie. Na rycinie 4 mam wrażenie,

**Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej**  
**Uniwersytet Medyczny w Lublinie**  
**Lublin 20-093**  
ul. Chodzki 4a  
tel. 817564811  
fax. 817564813  
Kierownik:  
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos



**Experimental Hematooncology**  
**Department**  
**Medical University**  
**of Lublin**  
**20-093 Lublin, POLAND**  
4a Chodzki St.  
tel. +48 817564811  
fax. +48 817564813  
Head:  
Prof. Krzysztof Giannopoulos

że podpisy pod grupami: kontrolną i badaną są zamienione, bo z aktualnego podpisu wynika, że poziom metylacji u chorych jest większy niż u zdrowych. Rycina 9 wydaje się zbędna i nie do końca prawidłowa, bo wyniki w grupie badanej różnią się istotnie statystycznie w zależności od stanu remisji więc nie powinno się ich przedstawiać łącznie – wystarczy przedstawienie wyników jak w Rycinie 10. Wyjaśnień wymaga również zastosowanie we Wstępie rycin pochodzących z innych publikacji – jeśli Autor nie posiada zgody Wydawcy na ich wykorzystanie jest to złamanie praw autorskich. Rozprawa doktorska jest dziełem autorskim (i w języku polskim) więc korzystniej byłoby samodzielnie opracować rycinę w oparciu o publikacje i opisać po polsku.

Podsumowując uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa jest na wysokim poziomie merytorycznym i spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych. Wnoszę do Wysokiej Rady Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego wniosek o dopuszczenie mgr. inż. Marka Cieśli do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin  
Tel. 81 448 66 30, fax: 81 448 66 34

KIEROWNIK  
Zakładu Hematoonkologii Doświadczalnej  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos