

Olsztyn, 29.08.2018 r.

Prof. dr hab. Urszula Czarnik  
Wydział Bioinżynierii Zwierząt  
UWM w Olsztynie

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Marty Surdyki  
pt. **Mitochondrialna i jądrowa genomika w nowotworach sutka psów**  
**(*Canis lupus familiaris*)**

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Brygidy Ślaskiej  
i promotora pomocniczego dr inż. Artura Gurgula

**Ocena wyboru i znaczenia podjętej tematyki badawczej**

W naukach zootechnicznych badania z zakresu genetyki molekularnej od początku w sposób naturalny realizowane są pod kątem identyfikowania i charakterystyki markerów cech istotnych w hodowli i produkcji zwierzęcej. Jednym z kierunków jest poszukiwanie zależności między polimorfizmem DNA a podatnością na choroby, głównie choroby nowotworowe. Kancerogeneza i transformacja nowotworowa są złożonymi, długotrwałymi procesami uwarunkowanymi genetycznie i środowiskowo (epigenetycznie). Dowiedziono, że występują w wyniku nagromadzenia się wrodzonych i nabytych zmian molekularnych w genomie komórki, w postaci mutacji nieletalnych, jako skutek wieloetapowego uszkodzenia DNA. W konsekwencji prowadzi to do upośledzenia systemu równowagi metabolicznej komórki. U psów najczęściej diagnozowanymi zmianami rozrostowymi są nowotwory sutka, które w około 50% mają charakter złośliwy. Badania z zakresu onkogenezy u psów mają istotne znaczenie ze względu na polepszenie ich dobrostanu, ale również gatunek ten jest coraz częściej wykorzystywany, jako modelowy w badaniach chorób nowotworowych człowieka. Dotychczasowy stan wiedzy na temat zaburzeń występujących w materiale genetycznym komórek nowotworowych psów jest ograniczony. W ostatnich latach nastąpiła jednak intensyfikacja badań z wykorzystaniem osiągnięć z tego zakresu w medycynie ludzkiej. Mimo dużego zaangażowania licznych ośrodków naukowych, wciąż pozostają nieznane mechanizmy molekularne zainicjowania procesu onkogenezy i transformacji neoplastycznej. Wpisując się w nurt badań światowych, mgr inż.



Magdalena Marta Surdyka, podjęła ważny naukowo temat dotyczący identyfikacji zaburzeń strukturalnych w genomie mitochondrialnym i jądrowym psa, jako potencjalnych czynników etiologicznych nowotworów sutka.

### **Ocena formalna pracy**

Zgodnie z wymaganiami formalnymi przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Marty Surdyki stanowi spójny tematycznie zbiór trzech prac oryginalnych, opatrzonych wspólnym tytułem „Mitochondrialna i jądrowa genomika w nowotworach sutka psów (*Canis lupus familiaris*)”. Prace te zostały opublikowane w latach 2017-2018, w czasopismach indeksowanych w bazie *Journal Citation Reports* (JCR). Na podkreślenie zasługuje fakt, że dwie prace opublikowane zostały w prestiżowym czasopiśmie *Veterinary and comparative oncology*, posiadającym współczynnik wpływu *impact factor* (IF) 2,270, a liczba punktów wg wykazu czasopism naukowych MNiSW wynosi 45, natomiast jedna praca obecnie jest w procesie wydawniczym w czasopiśmie *Polish Journal of Veterinary Science*, (potwierdzenie redakcji) charakteryzującym się nieco niższymi wskaźnikami, którego IF wynosi 0,839 a liczba punktów – 20. Według wykazu czasopism naukowych MNiSW zgodnie z rokiem publikacji całkowita wartość przedstawionych prac wynosi 110 punktów a sumaryczny IF = 5,379. Wskaźniki te świadczą o bardzo wysokim poziomie naukowym i dużym zaangażowaniu Doktorantki w pracę badawczą. Wszystkie przedstawione prace są współautorskie, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Świadczy to, że mgr inż. Magdalena Marta Surdyka posiada umiejętność pracy w zespołach badawczych, co bez wątplenia jest dużą zaletą pracownika naukowego. Wkład pracy Doktorantki w ich powstanie został określony w zakresie od 55% do 80% (odpowiednio: 1 praca – 55%, 2 prace - 80%), średnio 72%, co niewątpliwie należy uznać za wkład znaczący. Z treści oświadczeń złożonych przez pozostałych współautorów publikacji, stanowiących przedmiot rozprawy wynika, że udział Doktorantki w ich powstanie był związany m. in. z koncepcją i organizacją badań (wraz z wykonaniem badań laboratoryjnych), interpretacją i końcowym opracowaniem wyników oraz przygotowaniem manuskryptów.

Rozprawa zawiera pełne teksty publikacji poprzedzone autorskim komentarzem, w którym, dokonano analizy otrzymanych i opublikowanych wyników. Ma ona formę klasycznej rozprawy naukowej i obejmuje rozdziały: *Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody,*



*Omówienie wyników, Podsumowanie i wnioski, Piśmiennictwo* oraz streszczenie w języku polskim i angielskim, tworząc łącznie wraz ze spisem treści, przejrzystą strukturę całości opracowania liczącą 24 strony maszynopisu. Został on napisany z zachowaniem właściwej sekwencji omawianych zagadnień a poszczególne fragmenty tekstu zawierają informacje podane w sposób uporządkowany i przejrzysty. Wykaz publikacji stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej został zamieszczony na początku opracowania, natomiast ich pełne teksty w załączniku. Do pracy dołączono również oświadczenia wszystkich współautorów publikacji. Przyjęty przez Autorkę układ pracy jest logiczny i nie budzi zastrzeżeń.

### **Ocena merytoryczna pracy**

Merytoryczne uzasadnienie podjętych badań Autorka przedstawiła w syntetycznie opracowanym trzy stronicowym wstępie w oparciu o najważniejsze pozycje naukowe. W tej części omówiła aktualny stan wiedzy na temat zaburzeń strukturalnych w genomie mitochondrialnym i jądrowym, mogących mieć związek z procesem transformacji nowotworowej sutka psów i kobiet. Skupiła się głównie na podaniu aktualnych wyników badań dotyczących mutacji występujących w niekodującym regionie hiperzmiennym i genach kodujących białka mitochondrialnego DNA oraz zmianie liczby kopii (CNV) i utracie heterozygotyczności (LOH) genomu jądrowego. Informacje zawarte w tej części oraz odpowiadające mu fragmenty publikacji zamieszczone, jako załączniki świadczą o dobrym przygotowaniu teoretycznym Autorki do realizacji badań w obszarze, w którym mieści się przygotowana rozprawa.

Właściwy dobór pozycji bibliograficznych pozwoliły Autorce w sposób trafny wytyczyć jeden cel, kompleksowo ujmując całość zagadnienia zawartego w trzech publikacjach, co nie jest łatwe i wymaga dojrzałości naukowej. Szkoda, że przy tak szerokim spektrum badań Autorka nie podjęła się trudu wyodrębnienia hipotezy badawczej. Uzasadnienie podjętych badań Autorka zamieściła w ostatnim akapicie rozdziału „Wstęp” (str. 9), jednak wydaje się ono zbyt ogólne, ale z pewnością ujmuje najważniejszy problem podejmowany w pracy.

W rozdziale *Materiał i metody* Autorka zamieściła podstawowe informacje dotyczące materiału zwierzęcego, zastosowanych technik molekularnych, przeprowadzonych analiz laboratoryjnych i bioinformatycznych oraz statystycznych. Podane w tym rozdziale informacje upoważniają mnie do stwierdzenia, że doświadczenie zostało

zaprojektowane profesjonalnie, z uwzględnieniem nowoczesnych metod badawczych i analitycznych. Należy zwrócić uwagę na ogromną czaso - i pracochłonność zastosowanych metod badawczych. Godnym uznania jest także liczba zastosowanych analiz bioinformatycznych.

W następnej części opracowania (*Wyniki*) Autorka dokonała syntezy treści trzech publikacji, które przedstawiają rezultaty przeprowadzonych badań i mieszczą się w temacie rozprawy doktorskiej. Omówienie wyników wraz z dyskusją zostało podzielone na zagadnienia, stanowiące podrozdziały, analizowane na podstawie wyników zawartych w publikacjach tworzących osiągnięcie naukowe.

W podrozdziale pierwszym Doktorantka przedstawiła pionierskie wyniki badań uzyskane z analizy genomu mitochondrialnego, w których wykazała obecność licznych polimorfizmów i kilku mutacji w pętli D i czterech fragmentach genów, tj. *ND2*, *COX2*, *ATP6*, *COX3*, z czego większość to jednonukleotydowe substytucje. Istotnym odkryciem była identyfikacja heteroplazmii w pętli D (15931\_delT), która może być mutacją *hotspot* nowotworów sutka psów.

W podrozdziale drugim przedstawiła wyniki uzyskane z analizy genomu jądrowego, w których wykazała obecność zmiany liczby kopii (CNV) oraz utratę heterozygotyczności (LOH), które mogą mieć związek z nowotworami sutka psów. Przeprowadzone analizy wykazały dominację amplifikacji nad delecjami sugerując, że amplifikacje są zaburzeniami genetycznymi w nowotworach sutka psów, co zostało opisane w medycynie ludzkiej.

W kolejnym podrozdziale wykorzystując zgromadzone dane przeprowadziła analizę asocjacji wybranych fragmentów genomu mitochondrialnego oraz zmiany liczby kopii (CNV) i utratę heterozygotyczności (LOH) w genomie jądrowym ze stopniem złośliwości nowotworu, rozmiarem ciała i wiekiem psów zaliczanych do dużych. Wskazała, że zaburzenia strukturalne DNA mogą być wskaźnikami prognostycznymi nowotworów sutka psów.

Pani mgr inż. Magdalena Marta Surdyka wyniki własnych analiz przedstawiła na tle badań przeprowadzonych przez innych autorów, jednak ze względu na ograniczoną ich liczbę, uzyskane rezultaty odniosła głównie do osiągnięć opisanych w medycynie ludzkiej.

W rozdziale *Podsumowanie i wnioski* Autorka sprecyzowała sześć wniosków, które wyczerpująco weryfikują cel badań. Ich treść wynika bezpośrednio z przeprowadzonych



analiz a zwięzły sposób ich redakcji pozwala na szybkie zapoznanie z najważniejszymi rezultatami ocenianej rozprawy.

Wykorzystana w pracy bibliografia obejmuje 39 anglojęzycznych pozycji literaturowych, starannie dobranych merytorycznie, z czego 50% opublikowanych zostało w ostatnich dziesięciu latach. Niewątpliwie świadczy to o bardzo dobrej znajomości literatury, ściśle powiązanej z tematyką pracy.

### **Podsumowanie**

W przedstawionym do oceny osiągnięciu trudno doszukać się błędów czy niejasności, skoro prace tworzące jednotematyczny cykl zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych, posiadających współczynnik wpływu IF i znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR).

Reasumując stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Magdaleny Marty Surdyki jest cenną pozycją piśmiennictwa naukowego. Wnosi oryginalne wyniki wpisujące się w kierunek badań światowych, istotnie poszerzające wiedzę z zakresu genetycznych markerów występowania nowotworów sutka psów. Uzyskane wyniki mają nie tylko duże znaczenie naukowe, ale są perspektywicznie ważne aplikacyjnie, gdyż przybliżają nas do poznania podłoża molekularnego transformacji neoplastycznej, nie tylko w przypadku nowotworów sutka psów, ale również chorób nowotworowych występujących u ludzi. Niepodważalnym walorem pracy jest kompleksowość przeprowadzonych analiz oraz dbałość o wiarygodność uzyskanych wyników. Wszelchstronność przeprowadzonych przez Doktorantkę analiz świadczy o dużej wiedzy merytorycznej oraz doskonałym opanowaniu nowoczesnych technik analitycznych i bioinformatycznych. Zgromadzone informacje z zakresu genetyki molekularnej, biochemii i bioinformatyki, umiejętnie powiązane ze sobą, są niewątpliwie walorem rozprawy i świadczą o dużej wiedzy merytorycznej Autorki.

### **Wniosek końcowy**

Oceniając wysoko poziom naukowy i oryginalność uzyskanych wyników stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Magdaleny Marty Surdyki pt. ***Mitochondrialna i jądrowa genomika w nowotworach sutka psów (Canis lupus familiaris)*** spełnia wymogi określone w art. 13, 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. zmianami, t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Zgłaszam, więc wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki o przyjęcie pracy mgr inż. Magdaleny Marty Surdyki bez zastrzeżeń i dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę dużą wartość naukową uzyskanych wyników oraz fakt opublikowania ich w wysoko punktowanych czasopismach indeksowanych w bazie *Journal Citation Reports* (JCR), co stwarza duże szanse na wielokrotne ich cytowanie, wnioskuję o wyróżnienie pracy stosowną nagrodą.

Prof. dr hab. Urszula Czarnik

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'U. Czarnik', located below the typed name.