130

wpłynęło 21.02.2011 r.

MUZEUM I INSTYTUT ZOOLOGII, POLSKA AKADEMIA NAUK
ul. Wilcza 64, 00-679 Warszawa
Tel.: (48 22) 629 32 21, Tel./Fax: (48 22) 629 63 02, e-mail: sekretariat@miiz.waw.pl

Warszawa, 21.02.2011

RECENCJA

pracy doktorskiej Pani mgr Wioletty Izabeli Wujcickiej

„Rola genu supressorowego *WWOX* w nowotworach wieku dziecięcego (*nephroblastoma* i *neuroblastoma*)".

Temat pracy należy uznać za uzasadniony. Recenzowana praca stanowi obszerne studium, dotyczące zaangażowania w kancerogenezę i progresję nowotworów *nephroblastoma* i *neuroblastoma* genu supressorowego *WWOX*.

Przedmiotem badań była analiza utraty heterozygotyczności, metylacji promotora oraz tempa ekspresji genu *WWOX* na poziomie RNA i białka. Równocześnie określano tempo ekspresji na poziomie RNA dwóch genów biorących udział w regulacji cyklu komórkowego (cyklina D1, cyklina E1), dwóch genów regulujących apoptozę (*BAX* i *BCL2*), markera proliferacji komórkowej (*KI67*), markera integracji komórkowej (e-kadheryny), genu supressorowego *TP73* oraz przekaźnictwa sygnałów (*ERBB2*, *EGFR*). Tak dobrany zestaw genów pozwala określić zmiany molekularne zachodzące w komórce nowotworowej. Autorka przeprowadziła badania tempa ekspresji tych genów w tkankach od 24 pacjentów z nowotworami *nephroblastoma* i 23 z *neuroblastoma*.

Praca jest obszerna, napisana w sposób logiczny i zrozumiały. Zebrane dane przedstawiono w 13 tabelach i na 9 rycinach. W przeglądzie literatury i dyskusji uwzględniono 243 pozycji. Całość pracy liczy 135 stron.

Ocena merytoryczna

Nowotwory wieku dziecięcego stanowią w Polsce drugą pod względem częstości przyczynę zgonów wśród dzieci i młodzieży. Szybka progresja nowotworów u dzieci sprawia, że wczesne rozpoznanie choroby jest szczególnie ważne, chociaż niestety, ze względu na niespecyficzność wczesnych objawów klinicznych, rozpoznanie jest poważnie utrudnione. Obecna wiedza na temat molekularnych mechanizmów kancerogenezy *nephroblastoma* i *neuroblastoma* jest dość skąpa i dotyczy utraty heterozygotyczności kilku obszarów chromosomowych, zmiany poziomu metylacji wysp CpG oraz zmiany tempa ekspresji pewnej liczby genów regulujących cykl komórkowy, różnicowanie i apoptozę.

W przeglądzie literatury doktorantka bardzo ciekawie i obszernie przedstawiła problematykę związaną z molekularnymi mechanizmami koncerogenezy i epidemiologii *nephroblastoma* i *neuroblastoma*. Z pośród wielu genów zmieniających ekspresję w trakcie kancerogenezy do szczegółowej analizy Autorka wybrała gen *WWOX* (**WW** domain containing **OX**idoreductase). Taki wybór jest jak najbardziej uzasadniony. Domena WW białka, kodowanego przez gen *WWOX* bierze udział w oddziaływaniu z innymi białkami takimi jak COTE1, SIMPLE, WBP-1, AP-2γ, oraz NF-κB. AP-2 i NF-κB to czynniki transkrypcyjne biorące udział w regulacji ekspresji wielu genów, w tym tak istotnych dla kancerogenezy jak geny *ERS1* i *ERBB2*. Szczegółowa analiza genu *WWOX* pozwoliła Autorce powiązać kilka zachodzących w nowotworach procesów molekularnych.

Jako cel swojej pracy Doktorantka postawiła określenie częstotliwości występowania delecji w łamliwym regionie chromosomowym FRA 16D, określenie zmian metylacji promotora *WWOX*, ekspresji genu *WWOX* oraz innych genów związanych z procesem kancerogenezy w *nephroblastoma* i *neuroblastoma* a także ocenie funkcjonowania genu *WWOX* w kancerogenezie i progresji tych nowotworów.

W tym celu Doktorantka analizuje częstotliwość utraty heterozygotyczności dwóch markerów mikrosatelitarnych rejonu FRA 16D, poziom metylacji dwóch regionów promotora genu *WWOX*, a także poziom ekspresji *WWOX* oraz dziewięciu genów biorących udział w procesach proliferacji, cyklu komórkowego oraz apoptozy w tkankach pobranych od 24 pacjentów z *nephroblastoma* i 23 z *neuroblastoma* metodą Real Time PCR. Wybór metody badań jest uzasadniony.

Przedstawione wyniki oceniam, jako w pełni wiarygodne. Do najbardziej interesujących należy stwierdzenie wpływu metylacji promotora na ekspresję *WWOX* wyłącznie u heterozygot w tkankach pacjentów z *nephroblastoma.* Niestety, Doktorantka nie analizuje głębiej tego zagadnienia, nie określa, jakie czynniki transkrypcyjne mogą wiązać się z badanymi rejonami promotora. Analiza ekspresji genów w tkankach pozwoliła stwierdzić pozytywną korelację tempa ekspresji genu *WWOX* z ekspresją genu antyapoptotycznego *BCL2*, ekspresją genów kodujących białka z rodziny receptorów HER oraz negatywną korelację z ekspresją genów cyklin i receptora *ERBB2*.

Doktorantka otrzymała wiele ciekawych wyników dotyczących korelacji ekspresji genów w tkankach pacjentów chorych na *nephroblastoma* i *neuroblastoma*, które mogłyby stanowić początek badań nad profilowaniem ekspresji genów w tego typu nowotworach. Niestety, analiza otrzymanych wyników nie jest mocną stroną Doktorantki. Podobnie jak w analizie wpływu metylacji na ekspresję *WWOX* tak przy analizie wzajemnych korelacji ekspresji genów Doktorantka ograniczyła się do wymienienia co z czym koreluje, podczas gdy z 66 analizowanych korelacji 20 jest statystycznie istotnych w *nephroblastoma*, a 14 w *neurolastoma* z czego tylko 5 jest wspólnych dla obu typów nowotworów.

Wniosek końcowy

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Wioletty Izabeli Wujcickiej dostarcza dużo nowych, istotnych informacji na temat molekularnych mechanizmów kancerogenezy nowotworów *nephroblastoma* i *neuroblastoma*, w szczególności roli genu *WWOX* i w pełni odpowiada kryteriom wymaganym dla prac doktorskich. W związku z tym wnioskuję o dopuszczenie mgr Wioletty Izabeli Wujcickiej do obrony powyższej rozprawy.

Prof. nadzw. dr hab. Tadeusz Malewski