

Dr hab. n. med. Katarzyna Kuśnierz
Katedra i Klinika Chirurgii Przewodu Pokarmowego
Wydział Lekarski Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach
ul. Medyków 14
40-752 Katowice

Katowice, 03.09.2018

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Anny Malczewskiej
„ Rola mikroRNA w nowotworach neuroendokrynych jelita cienkiego”.

Przedmiotem rozprawy doktorskiej przedstawionej przez lek. Annę Malczewską są dwie publikacje o tematyce poświęconej nowotworom neuroendokrynym jelita cienkiego pod wspólnym tytułem „ Rola mikroRNA w nowotworach neuroendokrynych jelita cienkiego”. Prace są próbą odpowiedzi na trudne pytania dotyczące zidentyfikowania nowych diagnostycznych biomarkerów nowotworów neuroendokrynych o wysokiej czułości i swoistości, które pozwolą na przewidywanie i wczesne wykrycie wznowy, zaplanowanie i przewidywanie skuteczności leczenia oraz ocenę rokowania. Ponieważ chromogranina, dotychczasowy marker stosowany w diagnostyce i monitorowaniu nowotworów neuroendokrynych charakteryzuje się niską czułością i swoistością, rozpoczęto badania nad molekularną charakterystyką NET. Badania Doktorantki dotyczą mikroRNA, które są odpowiedzialne za istotne funkcje komórkowe, a zaburzenie ich ekspresji może prowadzić do nowotworzenia. Odkrycie mikroRNA w płynach ustrojowych wywołało zainteresowanie naukowców badaniami nad panelami ekspresji mikroRNA w nowotworach, w tym również w nowotworach neuroendokrynych.

Rozprawa ma typowy układ, który obejmuje kolejno przedstawione: wstęp, cel pracy, materiał i metody, podsumowanie wyników i dyskusji, wnioski, streszczenia w języku polskim

i angielskim oraz piśmiennictwo. W skład rozprawy wchodzi również oświadczenia Doktorantki o udziale w powstaniu obu publikacjach, zgoda Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badania, informacje o finansowaniu projektów badawczych, oświadczenia współautorów oraz teksty obu publikacji (kserokopie wydruku z publikujących czasopism). Wszystkie części rozprawy tworzą logiczny ciąg, który pozwala na zapoznanie się z obszernym tematem publikacji. Obie prace zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach z Listy Filadelfijskiej i mają łączny Impact Factor 8.875.

W pierwszej publikacji „ *A Comprehensive Assessment of the Role of miRNAs as Biomarkers in Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors*” opublikowanej w 2018 roku w *Neuroendocrinology*, Doktorantka jest pierwszym autorem. Czasopismo posiada IF 3.608. Wkład Doktorantki w powstanie publikacji polegał na stworzeniu koncepcji przeglądu systematycznego literatury, analizie wybranych publikacji, przygotowaniu tabel, rycin i wyników do publikacji. Jako pierwszy autor, jak potwierdzają współautorzy w oświadczeniach, lek. Anna Malczewska wniosła znaczący wkład w powstanie publikacji. Dokonując systematycznego przeglądu literatury dotyczącej ekspresji miRNA w GEP-NEN, w szczególności NEN jelita cienkiego, Doktorantka postawiła sobie za cel identyfikację miRNA, ocenę roli miRNA o zaburzonej ekspresji oraz oszacowanie prawdopodobieństwa z jakim miRNA (tkankowe/krażące) mogą stanowić klinicznie biomarkery GEP-NEN. Przeprowadzenie przeglądu systematycznego wymaga odpowiedniego wyboru piśmiennictwa, co możliwe jest tylko dzięki posiadaniu dużej wiedzy dotyczącej analizowanego tematu, którą niewątpliwie wykazała Doktorantka. Doktorantka zidentyfikowała przy użyciu wyszukiwarki PubMed 22 publikacje przeprowadzające analizę ekspresji miRNA w GEP-NEN, w tym 9 prac analizujących ekspresję w nowotworach neuroendokrynych jelita cienkiego.

Lek. Anna Malczewska jest drugim autorem kolejnej publikacji wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej o tytule „*MicroRNAs associated with small bowel neuroendocrine tumours and their metastases*”, która opublikowana została w 2016 roku w *Endocrine-Related Cancer*. Należy podkreślić wysoką wartość wskaźnika IF czasopisma, który wynosi 5.267. Warto również podkreślić, że publikacja obejmuje część eksperymentalną, w której powstanie Doktorantka wniosła duży wkład. Doktorantka prowadziła część eksperymentalną badania stanowiącą walidację roli wybranych miRNA o zaburzonej ekspresji w przerzutach nowotworów neuroendokrynych jelita cienkiego do węzłów chłonnych i wątroby

w regulacji ekspresji onkogenów FOSB oraz NUA2. Brała Ona udział w zbieraniu materiału tkankowego i izolacji RNA do przeprowadzenia oznaczeń ekspresji miRNA w grupie kontrolnej. Doktorantka prowadziła hodowle linii komórkowej KRJ-I oraz HEK293T a także ko-transfekcję tych linii, wykonała izolację całkowitego RNA z komórek KRJ-I i HEK293T poddanych transfekcji, wykonała immunoblotting z pomiarem ekspresji białka NUA2, FOSB w komórkach KRJ-I. Doktorantka przeprowadzała również RT-qPCR z pomiarem ekspresji miR-1, miR-143 oraz transkryptów NUA2 i FOSB w komórkach KRJ-I po skutecznej transfekcji prekurorem lub antagonistą miR-1, miR-143 oraz odpowiednio negatywną kontrolą. Przeprowadzenie tej części eksperymentu wymagało od Doktorantki, nie tylko dogłębnej wiedzy dotyczącej tematu publikacji, lecz również dużych umiejętności praktycznych prowadzenia doświadczenia. Lek. Anna Malczewska przeprowadziła również analizę uzyskanych danych oraz przygotowała wyniki do druku.

W obu publikacjach Doktorantka wybrała odpowiednie piśmiennictwo i kompetentnie przeprowadziła dyskusję uzyskując w niej obraz aktualnego stanu wiedzy na analizowany temat. Warto podkreślić, że obie publikacje są obszernymi tekstami, obejmującymi odpowiednio 17 i 15 stron druku oraz dołączony dodatkowo suplement do publikacji II. Materiał obu publikacji jest bardzo dobrze zilustrowany poprzez odpowiednie ryciny, a wyniki przedstawione są w tabelach pozwalających na łatwe, mimo złożoności problemu, zapoznanie się z nimi. Warto podkreślić, że problem, który Doktorantka badała i omawia w swojej rozprawie doktorskiej jest rzadko przedmiotem badań ze względu na niewielką dostępność materiału, jakim są nowotwory neuroendokrynne jelita cienkiego oraz bardzo wymagający warsztat badawczy pozwalający na analizę miRNA. Dowodem trudności w prowadzeniu badań nad miRNA jest również wykazany przez Doktorantkę brak zbieżności i powtarzalności wyników uzyskanych przez autorów dyskutowanych publikacji.

W uzyskanych wynikach Doktorantka podkreśla, że NEN jelita cienkiego charakteryzują się zaburzoną ekspresją zarówno tkankowych, jak i krążących miRNA, miR-21 oraz miR-7-5p mogą stanowić potencjalne biomarkery tych nowotworów oraz twierdzi, że obniżona ekspresja miR-1 i miR-143 w przerzutach do węzłów chłonnych i wątroby może być związana z progresją choroby. We wnioskach Doktorantka podkreśla jednak, że obecny poziom wiedzy na temat miRNA w nowotworach neuroendokrynnych (głównie niewielka liczba badań naukowych, ograniczenia metodologiczne) nie pozwala na wykorzystanie ich jako biomarkery w praktyce klinicznej i konieczne są dalsze badania nad złożoną biologią miRNA

w warunkach optymalizacji i standaryzacji protokołów.

Myślę, że zarówno projekt naukowy opracowany przez lek. Annę Malczewską, jak i Jej duży nakład pracy związany z eksperymentalną częścią badania dowodzą, że należy Ona do grona młodych naukowców o dużym potencjale naukowym. Grono współautorów obu publikacji pochodzących z prestiżowych ośrodków naukowych Europy i USA oraz wysoki współczynnik IF czasopism, w których Doktorantka opublikowała wyniki, również świadczą o Jej naukowej kompetencji. Warto podkreślić, że projekt został częściowo sfinansowany ze stypendium naukowego lek. Anny Malczewskiej otrzymanego z European Neuroendocrine Tumor Society.

Doktorantka nie uniknęła kilku błędów literowych i gramatycznych, co jednak nie wpływa na wysoką ocenę Jej pracy naukowej.

Rozprawa doktorska lek. Anny Malczewskiej spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. 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 wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze o dopuszczenie rozprawy doktorskiej lek. Anny Malczewskiej „Rola mikroRNA w nowotworach neuroendokrynnych jelita cienkiego” do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na nowatorskość pracy, bardzo duży wkład naukowy lekarz Anny Malczewskiej w powstanie obu publikacji oraz wysoki poziom naukowy czasopism, w których zostały opublikowane wnioskuję o wyróżnienie dysertacji.

Dr hab.n.med.Katarzyna Kuśnierz
SPECJALISTA CHIRURG
71989211
Katarzyna Kuśnierz