



Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Anny Malczewskiej
„Rola mikro RNA w nowotworach neuroendokrynych jelita cienkiego”

W ostatnich latach odnotowujemy istotny wzrost wykrywalności nowotworów neuroendokrynych przewodu pokarmowego (GEP-NEN), stąd stanowią one coraz większe wyzwanie diagnostyczno-terapeutyczne dla lekarza. Z kolei w przypadku nowotworów jelita cienkiego współczynnik zapadalności spośród GEP-NEN jest najwyższy, a do tego są one rozpoznawane z opóźnieniem, najczęściej w zaawansowanej postaci z przerzutami do węzłów chłonnych i wątroby.

Pomimo ciągłego poszukiwania nowych, specyficznych markerów nowotworowych, które pozwoliłyby na szybkie rozpoznanie, a co za tym idzie właściwe leczenie, nadal chromogranina A pozostaje głównym markerem diagnostycznym. Pomimo niezłej czułości na poziomie 60 do 90%, swoistość chromograniny A jest niska i lokuje się na poziomie poniżej 50%. Poszukiwanie nowych specyficznych i czułych markerów, które pozwolą na ustalenie wskazań terapeutycznych, ale także udzielą informacji co do prognozy przebiegu choroby, jest najbardziej właściwą drogą dla lekarza – naukowca. Nowoczesne techniki molekularne w tym badanie mikroRNA to wielka nadzieja ale jednocześnie trudna droga do osiągnięcia celu. Skąpe dane literaturowe oraz brak dobrze zaplanowanych badań z udziałem dużych grup chorych z guzami neuroendokrynymi, u których analizowano ekspresję mikroRNA sprawia, że do tej pory trudno ustalić jakie znaczenie diagnostyczne i jakie korzyści kliniczne przyniesie głębsza analiza ekspresji mikroRNA w różnych grupach chorych o różnym poziomie zaawansowania choroby. Z kolei porównanie tych

wyników z klinicznym zaawansowaniem choroby może otworzyć nowe perspektywy, co do właściwego zaszeregowania chorych do terapii.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek. med. Anny Malczewskiej jest pracą kliniczno-molekularną wpisującą się w to zagadnienie, omawiając ekspresję mikroRNA u chorych z nowotworami neuroendokrynnymi jelita cienkiego z wyłączeniem dwunastnicy (SBNET). Na osiągnięcie naukowe składa się cykl dwóch prac o łącznym wysokim wskaźniku oddziaływania IF 8,875. Podejście metodyczne, poprzez analizę dostępnych danych w tym zakresie i kontynuacja badań molekularnych potwierdzają opanowanie przez Doktorantkę warsztatu naukowego oraz przejęcie doświadczeń promotora pracy prof. Beaty Kos-Kudła. Praca została przeprowadzona w jednostce o najwyższym stopniu referencyjności we współpracy z uznanym ośrodkiem międzynarodowym. Wybór obiektów oraz metod badawczych należy uznać za właściwy i umożliwiający osiągnięcie przez autorkę oczekiwanych wyników.

Przedstawiona mi do oceny praca jest zredagowana w sposób typowy dla tego typu prac. Zawiera ona kolejno stronę tytułową, podziękowania, spis treści, wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy, oświadczenie doktoranta o udziale w powstaniu zbioru publikacji oraz spis skrótów. We wstępie obejmującym 3 strony, Autorka omówiła aktualne dane odnośnie epidemiologii, zaawansowania oraz stosowanych markerów w diagnostyce nowotworów neuroendokrynnych układu pokarmowego. Następnie Doktorantka przedstawiła w sposób szczegółowy najnowsze doniesienia w zakresie możliwości wykorzystania mikroRNA jako biomarkera nowotworowego. Zawarte w tej części dane oparte są o nowoczesną głównie anglojęzyczną bibliografię i stanowią podsumowanie aktualnej wiedzy dotyczącej tego tematu. Konsekwentnie prowadzą one do przedstawienia założeń i celu pracy, którym było zidentyfikowanie miRNA o zaburzonej ekspresji w SBNET, ocena roli wybranych miRNA w kancerogenezie i progresji choroby, oraz ocena możliwości wykorzystania miRNA jako klinicznie użytecznych biomarkerów SBNET. Przedstawiono także cele szczegółowe dla obu ocenianych prac. Cele pracy ogólne i szczegółowe zostały sprecyzowane zrozumiale i uzasadniają podjęcie badań.

W kolejnym rozdziale „Materiał i Metody” opisano metodykę i kryteria wyszukiwania oraz sposób konstrukcji pracy, stanowiącej analizę ekspresji miRNA w GEP-NEN. Zidentyfikowano 22 prace z analizą ekspresji w GEP-NEN w tym 9 z SBNET. Opisano materiał tkankowy użyty w badaniach w kolejnej pracy. Materiał stanowiło: 28 guzów pierwotny jelita krętego; przylegająca zdrowa tkanka jelita krętego w liczbie 14; 24

przerzutów do węzłów chłonnych; 7 niezmiennych węzłów chłonnych, zdrowa tkanka wątroby 2 próbki oraz 15 przerzutów do wątroby. Następnie zastosowano analizę bioinformatyczną celem zidentyfikowania genów, potencjalnie regulowanych przez różnicujące miRNA. W kolejnym etapie przeprowadzono walidację roli obniżonej ekspresji miR-1 oraz miR-143 w przerzutach do węzłów chłonnych i wątroby w regulacji ekspresji zidentyfikowanych onkogenów *NUAK2* oraz *FOSB*, i po wnikliwej analizie określenie ich udziału w progresji choroby. W tej części szczegółowo opisano kolejne etapy całego procesu. Dobór metod uważam za właściwy i zapewniający osiągnięcie zamierzonych celów badawczych.

Podsumowanie wyników badań przedstawiono na 6 stronach odrębnie dla obu prac. W pierwszej pracy, na podstawie danych z 7 badań analizujących zaburzoną ekspresję miRNA w materiale tkankowym SBNET ustalono, że nowotwory neuroendokrynne jelita cienkiego charakteryzują się zaburzoną ekspresją tkankowych miRNA. Poddano analizie macierzowej ekspresję wielu miRNA między innymi: miR-31, miR-129-5, miR-133a, miR-215, miR-96, miR-182, miR-183, miR-196a, miR-19a+b, miR-488 miR-145, miR-146, miR-222, miR-10b, miR-9, miR-124, miR-143, miR-144, miR-122, miR-7-5p oraz miR-96-5p

Następnie poddano analizie ekspresję krążących miRNA w SBNET i wykazano brak zbieżności pomiędzy danymi literaturowymi dotyczącymi ekspresji miRNA w SBNET. Ważnym spostrzeżeniem jest brak korelacji pomiędzy tkankową ekspresją, a ekspresją miRNA w krążeniu SBNET, co sprawia trudności w wykorzystaniu miRNA jako biomarkera tej jednostki chorobowej. Zapewne aby uzyskać lepsze wykorzystanie miRNA wymaga to wielu kolejnych żmudnych badań i poznania biologicznej roli miRNA.

Dyskusja nie jest zbyt rozbudowana i mieści się na 5 stronach. Autorka systematycznie omawia doniesienia z piśmiennictwa (77 pozycji) i porównuje z nimi wyniki własnych dociekań, wskazując na zgodności i podkreślając elementy nowości własnych dokonań i ograniczenia wynikające z własnej pracy. Merytorycznie wykorzystuje piśmiennictwo i potrafi uważnie ocenić wyniki innych autorów, krytycznie odnosząc się do swojej pracy, raczej umniejszając jej wartość niż

przeceniając. Nie było to zadanie łatwe ze względu na ubogie piśmiennictwo w zakresie omawianego tematu.

Wnioski skonstruowane przez Autorkę są zwięzłe i uprawnione po uzyskaniu własnych wyników badań.

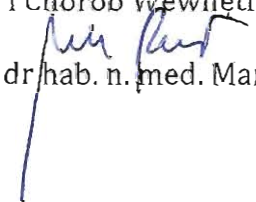
W kolejnej części opisano sposób finansowania projektu oraz zgodę komisji bioetycznej. W rozdziale 9. umieszczono spis piśmiennictwa głównie anglojęzycznego w liczbie 77 stanowiące cenne źródło informacji. Kolejno umieszczono streszczenie w języku polskim i angielskim. Załączono także kopie publikacji oraz materiały dodatkowe i oświadczenia współautorów obu prac.

Nie wnoszę uwag krytycznych, co do zasadności podejmowanych badań, toku ich przeprowadzenia, doboru metod badawczych, wyników oraz ich opracowania, interpretacji i dyskusji oraz wniosków końcowych.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została dobrze zaplanowana i wykonana przy użyciu sprawdzonych przez Autorkę technik badawczych.

Z wyżej wskazanych względów, w oparciu o przepisy Ustawy o Tytule i Stopniach Naukowych, mam zaszczyt wystąpić do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym Śląskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Autorki rozprawy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Pragnę dodać, że w mojej ocenie praca może być uznana jako oryginalny dorobek naukowy Autorki. Podkreślając nie tylko walory metodologiczne pracy, ale także jej nowatorstwo oraz wytyczenie nowych kierunków badawczych, wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału o wyróżnienie przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

Kierownik Katedry i Kliniki
Endokrynologii, Przemiany Materii
i Chorób Wewnętrznych

Prof. dr hab. n. med. Marek Ruchała