



**UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU**  
**WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM**  
**MEDYCZYNY LABORATORYJNEJ**

**Zakład Chemii Leków**

**15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D**

**Tel. (85) 748-57-06, FAX (85) 748-58-66**

[pal@umb.edu.pl](mailto:pal@umb.edu.pl)

---

Prof. dr hab. n. farm. Jerzy Pałka

Białystok, 26.11.2018.

**OCENA PRACY DOKTORSKIEJ**

**PT.: "Stężenie rozpuszczalnej formy liganda indukującego proliferację (APRIL) oraz wybranych wskaźników biochemicznych w surowicy krwi pacjentów z rakiem, gruczolakiem lub wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego" wykonanej przez mgr Natalię Katarzynę Grzegorzak w Katedrze i Zakładzie Patologii Wydziału Farmaceutycznego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego.**

Przedstawiona mi do recenzji praca stanowi kontynuację badań nad poszukiwaniem markerów wczesnego wykrywania raka jelita grubego oraz różnicowania stanów przedrakowych tego narządu.

Zagadnienie to jest szczególnie ważne nie tylko ze względu na brak specyficznych markerów wczesnego wykrywania raka okrężnicy, ale także słaby postęp w terapii tej choroby. Poznanie charakterystycznych czynników na poszczególnych etapach rozwoju choroby może bowiem ułatwić zrozumienie molekularnego mechanizmu choroby i dobór adekwatnej terapii.

Poszukiwanie panelu testów diagnostycznych służących diagnostyce i terapii raka jelita grubego stanowi przedmiot zainteresowań badawczych Doktorantki. Podjęcie przez Doktorantkę niniejszego tematu badawczego uważam za uzasadnione i niezwykle ważne z punktu widzenia zarówno poznawczego jak i aplikacyjnego.

Rozprawa doktorska Natalii Grzegorzak koncentruje się na ilościowej ocenie cytokiny APRIL, antygenu karcynoembrionalnego (CEA), białka C-reaktywnego (CRP) oraz interleukiny-6 (IL-6) w osoczu pacjentów z rakiem jelita grubego i stanami przedrakowymi: gruczolakiem i wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. O ile potencjalny mechanizm rozwoju tych chorób jest udokumentowany obszerną literaturą tego zagadnienia to jednak rola cytokiny APRIL w przebiegu powyższych chorób i reakcji zapalnych nie jest dobrze poznana. Z tego powodu Autorka rozprawy doktorskiej podejmuje próbę łącznej oceny stężenia APRIL i kluczowych wskaźników zapalenia w osoczu pacjentów w przebiegu raka jelita grubego, gruczolaka i wrzodziejącego zapalenia jelita z rakiem z uwzględnieniem stopnia zaawansowania klinicznego choroby, stopnia zróżnicowania komórek tkanki, typu histopatologicznego i lokalizacji. Wiadomo bowiem, że APRIL pełni wiele ważnych funkcji fizjologicznych i ulega nadekspresji w przebiegu wielu chorób, również chorób o podłożu zapalnym i chorób nowotworowych. Za jego pośrednictwem transmitowany jest sygnał wewnątrzkomórkowy modulujący ekspresję wielu genów w wielu komórkach

uczestniczących w zapaleniu i odpowiedzi immunologicznej. Kompleksowość zjawisk towarzyszących tym procesom została dobrze opisana we wstępie pracy. Doktorantka wykorzystwała doświadczenie zespołu badawczego Zakładu Patologii i innych badaczy z zakresu diagnostyki i farmakoterapii chorób przewodu pokarmowego, mechanizmów indukcji zapalenia oraz roli cytokin w tym procesie. Zagadnienia te stanowią przedmiot intensywnych badań. Świadczy o tym bogata literatura dotycząca tych zagadnień, zamieszczona w piśmiennictwie rozprawy doktorskiej. Literatura omawianych zagadnień została poprawnie dobrana tematycznie i w przeważającej części stanowi osiągnięcia ostatnich dziesięciu lat w tej dziedzinie.

Współczesna, obszerna wiedza o mechanizmach powstawania odpowiedzi immunologicznej w przebiegu procesu zapalnego oraz udział licznych czynników wzrostowych, cytokin, limfokin zaangażowanych w indukcję odporności utrudnia przedstawienie mechanizmu rozwoju raka jelita grubego. W proces ten zaangażowanych jest bowiem wiele komórek i szlaków metabolicznych. Z tego względu współczesne badania nad sposobami przeciwdziałania procesom zapalnym i nowotworowym tkanek koncentrują się na poznaniu mechanizmów działania endogennych czynników regulatorowych. Doktorantka podjęła tego typu badania. U pacjentów z rakiem jelita grubego i stanami przedrakowymi przeprowadziła analizę ilościową czynników, których rola w przebiegu zapalenia jest udokumentowana.

Na podstawie analizy ilościowej CEA, CRP i IL-6 wykazała znaczenie diagnostyczne tych czynników w raku jelita grubego i stanach przedrakowych. Natomiast podwyższone stężenie APRIL w surowicy krwi badanych pacjentów okazało się wskaźnikiem różnicującym stopień zaawansowania klinicznego raka jelita grubego oraz stopień zróżnicowania komórek nowotworowych. Szczególnie ważnym wynikiem tych badań jest przedstawienie dowodów wysokiej wartości diagnostycznej oceny osoczonego stężenia APRIL w monitorowaniu skuteczności terapii raka. Ponadto Doktorantka wykazała, że łączne oznaczanie badanych czynników w różnych kombinacjach zwiększa czułość i swoistość oznaczeń diagnostycznych, a także wartość diagnostyczną APRIL.

Wiarygodność powyższych badań potwierdza prawidłowo przeprowadzona analiza statystyczna z oceną czułości diagnostycznej testu, specyficzności, wartości predykcyjnej dodatniej i ujemnej i dokładności testu. Badania te przeprowadzono przy użyciu powszechnie stosowanych technik badawczych i klasycznych testów diagnostycznych jak np. ELISA, analiza immuno-turbidymetryczna czy immunochemiczna.

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka wysunęła propozycję poszerzenia diagnostyki raka jelita grubego i monitorowania skuteczności leczenia tej choroby o ocenę ilościową APRIL w surowicy krwi pacjentów.

Treść pracy doktorskiej została przedstawiona w postaci 20 rycin i 26 tabel, które stanowią ilustrację obszernego zakresu badań i dokumentację wyników pracy doświadczalnej Doktorantki. Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułowała 6 wniosków stanowiących podsumowanie. Wnioski odzwierciedlają najistotniejsze elementy poznawcze pracy i sugerują wykorzystanie wyników badań w diagnostyce i monitorowaniu leczenia raka jelita grubego oraz różnicowania stanów przedrakowych.

Dyskusja zawiera konkluzje przedstawione w części doświadczalnej oraz interpretuje uzyskane wyniki badań na podstawie badań własnych i obszernej literatury przedmiotu.

Świadczy to o specjalistycznej wiedzy Autorki pracy i pozwala pozytywnie ocenić umiejętność rozwiązywania problemów badawczych, korzystania z literatury stanowiącej przedmiot pracy oraz interpretacji wyników. Niemniej jednak niektóre zagadnienia wymagają wyjaśnienia, uzupełnienia bądź mogą stanowić przedmiot dalszej dyskusji, na przykład:

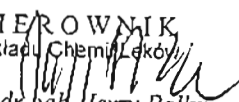
1. Jaki był cel oceny porównawczej stężeń badanych cytokin w surowicy pacjentów z gruczolakorakiem śluzówkowym i cewkowym? Czy istnieją przesłanki do tego typu porównania?
2. Jaki był cel przedstawienia obrazu histopatologicznego gruczolakoraka jelita grubego o II stopniu złośliwości, zwłaszcza bez opisu tego zdjęcia. Czy nie należałoby przedstawić i opisać zdjęcia wszystkich stopni złośliwości histologicznej raka jelita grubego (Ryc. 7) łącznie z charakterystyką tkanki tkankowego w powiązaniu z funkcją proliferacyjną APRIL?
3. Niektóre zagadnienia są niejasno opisane. Na przykład niezrozumiałe jest funkcjonalne znaczenie ścieżek sygnalizacyjnych opisanych na Ryc. 2 czy ostatnie zdanie na str. 80
4. Jaką hipotezę miała Autorka na myśli pisząc o patomechanizmie raka jelita grubego? Str. 87 i wniosek 2, str. 88.

Powyższe uwagi nie umniejszają merytorycznych wartości pracy doktorskiej, jednak mogą być uwzględnione przez Doktorantkę w dalszej działalności naukowej i publikacyjnej.

Reasumując, uważam, że rozprawa doktorska mgr Natalii Grzegorzak jest pracą wartościową, poprawnie przygotowaną warsztatowo i wnosi nowe elementy poznawcze w zakresie wartości diagnostycznej APRIL w przebiegu raka jelita grubego.

Wysoko oceniam niniejszą rozprawę doktorską i składam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Natalii Grzegorzak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

26.11.2018.

KIEROWNIK  
Zakładu Chemii Leków  
  
prof. dr hab. Jerzy Palka