

Prof. dr hab. n. med. Kamal Morshed

Lublin, 04.09.2022

RECENZJA

Ocena Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. dent. Artura Wróbel-Roztropińskiego pt.:

„Ocena ekspresji genów białek macierzy zewnątrzkomórkowej metaloproteinaz mmp-2, mmp-7, mmp-9 oraz ich tkankowego inhibitora timp-2 u chorych na raka jamy ustnej i gardła”

Na podstawie badania GLOBOCAN z 2020r. na świecie nowotwory złośliwe głowy i szyi stanowią szóstą (po nowotworach złośliwych płuc, piersi, jelita grubego, prostaty i żołądka) co do częstości występowania lokalizację nowotworów złośliwych i jednocześnie są siódmą (po nowotworach złośliwych płuc, jelita grubego, żołądka, wątroby, piersi i przełyku) co do częstości przyczyną zgonów związaną z obecnością nowotworów złośliwych.

Według Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w 2019 roku dla Polski częstość nowych zachorowań na nowotwory złośliwe jamy ustnej, wargi i gardła u mężczyzn wynosiła ok. 3,6% (3093) spośród wszystkich nowotworów złośliwych, a u kobiet 1,5% (1249), co stanowiło w sumie ok. 4332 zachorowań. Spośród wszystkich nowotworów złośliwych jamy ustnej 90% stanowi rak płaskonabłonkowy, pozostałe 10% odnosi się do innych nowotworów złośliwych, wśród których najczęstszymi są raki z drobnych gruczołów ślinowych.

Zachorowania na nowotwory złośliwe jamy ustnej, wargi i gardła w naszym kraju w większości dotyczą osób po 50 roku życia, 89% zachorowań występuje u mężczyzn, a 87% u kobiet. Oznacza to, że tylko 11% zachorowań u mężczyzn i 13% u kobiet dotyczy osób młodszych, które w chwili rozpoznania nie ukończyły 50 roku życia.

Od wielu lat badana jest kancerogeneza, potencjalne czynniki rakotwórcze, mechanizm metaplastji i powstawania nowotworów. Wiadomo, że palenie tytoniu oraz spożycie alkoholu mają istotny związek z powstawaniem raka krtani. Pomimo tego związku wielu autorów poszukuje

innych czynników, które mogą mieć wpływ na powstawanie nowotworów. Pojawia się coraz więcej doniesień o roli metaloproteinaz w kancerogenezie.

Udowodniono, że wzrost i inwazja guzów nowotworowych zależą od równowagi między czynnikami wpływającymi na degradację i podtrzymanie otaczających tkanek. Za rozkład macierzy pozakomórkowej odpowiedzialne są enzymy proteolityczne, wśród których szczególną rolę wydają się odgrywać metaloproteinazy. Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMPs) mają zdolność trawienia prawie wszystkich składników zrębu pozakomórkowego. Wyróżniono też grupę enzymów, tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (TIMPs), których funkcja polega na hamowaniu aktywności metaloproteinaz.

Z tych powodów przedstawiona mi do oceny praca doktorska omawia ważne problemy dotyczące poszukiwania nowych czynników prognostycznych, które umożliwiłyby ustalenie rokowania i zastosowanie najlepszej metody leczenia.

Rozprawa doktorska lek. dent. Artura Wróbel-Roztropińskiego ma typowy układ. Wydruk komputerowy zawiera 76 stron tekstu, 11 tabel, 3 ryciny, 12 wykresów. Piśmiennictwo liczy 84 pozycji krajowych i zagranicznych.

We wstępie autor na podstawie licznego piśmiennictwa przedstawia epidemiologię nowotworów złośliwych głowy i szyi w Polsce i zagranicą, etiologię rozpoznawanie, czynniki prognostyczne oraz leczenia nowotworów złośliwych jamy ustnej i gardła, proces kancerogenezy. Doktorant szeroko omawia rolę i chałturzystkę metaloproteinaz w kancerogenezie. W tej części pracy autor zapoznał czytelnika z najnowszą literaturą dotyczącą tematu.

Za cel pracy doktorant przyjął analizę: ekspresji genów metaloproteinaz: MMP-2, MMP-7, MMP-9 oraz ich inhibitora TIMP-2 na poziomie mRNA u chorych na raka jamy ustnej i gardła oraz ocenę ekspresji genów na poziomie białek metaloproteinaz MMP-2, MMP-7, MMP-9 oraz ich inhibitora TIMP-2, wybranych polimorfizmów w genach MMP-2, MMP-7, MMP-9 i TIMP-2,

oraz związków między cechami kliniczno-morfologicznymi w rakach jamy ustnej i gardła a badanymi parametrami molekularnymi.

Badania przeprowadzono w grupie 40 pacjentów (5 kobiet i 35 mężczyzn) w wieku $65 \pm 8,9$ lat leczonych chirurgicznie w latach 2015 –2017 z powodu nowotworów złośliwych jamy ustnej i gardła w I Katedrze Otolaryngologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz w Klinice Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Etyki (RNN/203/13/KE). Na podstawie badania klinicznego oraz badań obrazowych oceniano rozmiar guza nowotworowego, status węzłów chłonnych i stopień zaawansowania nowotworu („staging”) zgodnie z wytycznymi AJCC/UICC.

Przedmiotem badań była pooperacyjna tkanka pobrana z guza nowotworowego i fragment tkanki zdrowej bez obecności nacieku nowotworowego będącą grupą kontrolną oraz próbki krwi. Pobrany materiał przechowywano w temp. -80°C , a następnie zabezpieczony przesłano do laboratorium. Oznaczenia przeprowadzono w Zakładzie Biochemii Medycznej UM w Łodzi.

Analiza ekspresji genów metaloproteinaz MMP-2, MMP-7, MMP-9 oraz ich inhibitora TIMP-2 na poziomie mRNA została wykonana metodą ilościową PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy od ang. polymerasechainreaction) w czasie rzeczywistym (real time PCR). Ocena ekspresji krążących w surowicy krwi białek metaloproteinaz oraz ich inhibitora wykonana została za pomocą testu immunoenzymatycznego podwójnego wiązania -sandwich ELISA (ang. enzyme-linkedimmunosorbentassay).

Doktorant bardzo szeroko i szczegółowo opisuje: 1/materiał, 2/metodykę badań oraz doboru odpowiednich odczynników i aparatury, 3/ analizę statystyczną.

W wynikach doktorant w logicznej kolejności przedstawia uzyskane wyniki omawia je i przedstawia prawidłową interpretację wykorzystując odpowiednio analizę statystyczną oraz dokumentację w postaci rycin i tabel. Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Stwierdzono nadmierną ekspresję genów metaloproteinaz: MMP-2, MMP-7 i MMP-9, jak również obniżoną ekspresję genów ich inhibitora TIMP-2 na poziomie mRNA oraz białek, co sugeruje ich znaczącą rolę w procesie nowotworzenia u chorych z rakiem jamy ustnej i gardła. Pomiar stężenia MMP-2, MMP-7, MMP-9 i TIMP-2 w surowicy może być pomocny w diagnozowaniu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i gardła

2. Występowanie analizowanych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w genach metaloproteinaz MMP-2, MMP-7, MMP-9 i ich inhibitora TIMP-2 nie było związane z występowaniem raka jamy ustnej lub gardła, a zatem świadczy to o tym, iż mogą być funkcjonalnie neutralne.

3. Wraz z zaawansowaniem procesu klinicznego poziom ekspresji genów metaloproteinaz MMP-2, MMP-9 i TIMP-2 na poziomie mRNA i białka nie wzrasta. Zaobserwowano, iż wzrost liczby węzłów chłonnych z przerzutami związany jest z niższą ekspresją metaloproteinazy MMP-7 na poziomie mRNA.

W dyskusji doktorant umiejętnie podejmuje próby wyjaśnienia uzyskanych wyników i porównuje je z danymi z piśmiennictwa. Wnioski są ostrożne i wynikają z własnych badań. Praca dotyczy ważnego zagadnienia praktycznego. Cel badań sformułowany jest właściwie. Autor uzyskał odpowiedź na podstawowe pytania. Praca napisana jest poprawnym językiem.

Uwagi:

1. Opisy wykresów – powinny być umieszczone pod wykresami. Orelacje wyników ilustruje wykres. Np. Wykres 1 str 37 oraz wykresy 2-12.

Ta uwaga recenzenta nie podważa głównych osiągnięć pracy, a wzbogaci wartość przyszłej publikacji i nie pomniejsza jej wartości.

Podsumowując pracę doktorską lek. dent. Artura Wróbel-Roztropińskiego pt.: „Ocena ekspresji genów białek macierzy zewnątrzkomórkowej metaloproteinaz mmp-2, mmp-7, mmp-9 oraz ich tkankowego inhibitora timp-2 u chorych na raka jamy ustnej i gardła” należy stwierdzić, że doktorant wykazał się umiejętnością samodzielnego przeprowadzenia pracy badawczej oraz naukowej analizy uzyskanych wyników. Pracę oceniam wysoko i w pełni odpowiada ona wymogom określonym w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o tytule naukowym i stopniach naukowych (Dz. U. poz. 1669) i może stanowić podstawę do nadania jej autorowi stopnia doktora nauk medycznych.

Uniwersytet Technologiczno-Humanistyczny w Radomiu
Wydział Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu
Kliniczny Oddział Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej
tel. sekretariat: 48 361 3361, e-mail: laryngologia@wss.com.pl
Kierownik Klinicznego Oddziału: Prof. zw. dr hab. n. med. Kamal Morshed

Wnoszę do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. dent. Artura Wróbel-Roztropińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Kamal Morshed