



**KATEDRA I KLINIKA OTOLARYNGOLOGII
I ONKOLOGII LARYNGOLOGICZNEJ
UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
W LUBLINIE**

20-954 Lublin, ul. Dr K. Jaczewskiego 8
tel. +48 81 724 45 18; fax. +48 81 724 45 17
e-mail: klar@umlub.pl



Lublin 27.09.2022

Ocena

rozprawy doktorskiej lek dent. Artura Wróbla-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”

Nowotwory jamy ustnej i gardła stanowią nadal wyzwanie terapeutyczne i wiążą się ze złym rokowaniem z powodu szybkiej progresji i wczesnych przerzutów do węzłów chłonnych. Mechanizmy inwazji raka związane są między innymi z rozkładem macierzy pozakomórkowej przez enzymy proteolityczne.

Praca doktorska lek dent. Artura Wróbla-Roztropińskiego dotyczy właśnie oceny procesów biorących udział w progresji nowotworu. Doktorant podjął się oceny ekspresji genów białek macierzy zewnątrzkomórkowej metaloproteinaz i ich inhibitora tkankowego u chorych na raka jamy ustnej i gardła. Wybór tematu uważam za bardzo ważny i aktualny.

Praca doktorska lek dent. Artura Wróbla-Roztropińskiego ma typowy układ, zawiera 76 stron wraz ze streszczeniami w języku polskim i angielskim, 11 tabel, 12 wykresów i 84 pozycji piśmiennictwa.

We wstępie Autor przedstawia epidemiologię nowotworów jamy ustnej i gardła w Polsce i na świecie opierając się na najnowszych danych. Omawia także wyniki leczenia w postaci przeżyć 1 rocznych i 5 letnich oraz umieralności z powodu raka jamy ustnej i gardła. Doktorant omawia etiologię raka jamy ustnej i gardła przedstawiając stany przedrakowe i czynniki karcinogenne i ich wpływ na rokowanie. Wstęp zawiera także opis możliwych objawów choroby oraz współczesne standardy postępowania diagnostycznego i

terapeutycznego. Autor szeroko omawia budowę, klasyfikację i funkcję metaloproteinaz oraz ich rolę w procesie karcynogenezy.

Zagadnienia zawarte we wstępie przedstawione są zwięźle, oparte na aktualnych i najnowszych doniesieniach naukowych. Swobodny sposób poruszania trudnych zagadnień postępowania klinicznego oraz procesów biochemicznych i onkologicznych świadczy o szerokiej wiedzy Doktoranta.

Celem pracy była analiza ekspresji genów na poziomie mRNA oraz na poziomie białek metaloproteinaz MMP-2, MMP-7, MMP-9 i ich inhibitora tkankowego TIMP-2, analiza wybranych polimorfizmów w genach MMP-2, MMP-7, MMP-9 i TIMP-2, oraz analiza związku parametrów molekularnych z cechami kliniczno-morfologicznymi chorych z rakiem jamy ustnej i gardła.

Lek dent. Artur Wróbel-Roztropiński przeprowadził badanie u 40 chorych leczonych pierwotnie chirurgicznie z powodu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej lub gardła. U wszystkich chorych pobierano materiał z guza, z prawidłowej błony śluzowej, oraz krew.

Analiza ekspresji genów metaloproteinaz MMP-2, MMP-7, MMP-9 oraz ich inhibitora TIMP-2 na poziomie mRNA została wykonana metodą ilościową PCR w czasie rzeczywistym (real time PCR). Autor dokładnie opisuje metodę wyodrębniania, rozdzielania i trawienia RNA, użytego następnie jako substrat do reakcji odwrotnej transkryptazy. Uzyskany cDNA wykorzystany był w reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym z zastosowaniem dokładnie opisanych starterów MMP-2, MMP-7, MMP-9 i TIMP-2.

Doktorant w jasny i szczegółowy sposób przedstawia metodykę oceny ekspresji białek metaloproteinaz oraz metody analizy wybranych sekwencji polimorfizmów. Opis metodyki badań jest precyzyjny, szczegółowy i umożliwiający powtórzenie badań przez innych badaczy.

Omówienie wyników jest dokładne i czytelnie, poparte czytelnymi tabelami i rycinami, podzielone na sekcje ułatwiające interpretację. Autor przedstawił charakterystykę kliniczno-epidemiologiczną grupy i ocenił zależności pomiędzy niektórymi cechami jak np.: stopień złośliwości nowotworu a cechy demograficzne - wiek, czas trwania nałogów czy obciążenia genetyczne.

Ocena poziomu ekspresji genów analizowanych metaloproteinaz MMP-2, MMP-7 i MMP-9 w tkankach nacieku nowotworowego wykazała, że był on istotnie statystycznie

wyższy niż w tkankach zdrowych, stanowiących grupę kontrolną. Największy średni poziom ekspresji dotyczył MMP-2. Poziom ekspresji genów dla TIMP-2 na poziomie mRNA odwrotnie niż MMP, był istotnie niższy w tkankach nacieku nowotworowego niż w tkankach zdrowych.

Autor wykazał także, że średnie stężenie białek metaloproteinaz MMP-2, MMP-7, MMP-9 w surowicy krwi chorych z rakiem jamy ustnej i gardła było istotnie statystycznie wyższe niż w surowicy osób zdrowych. Natomiast stężenie inhibitora TIMP-2 było istotnie statystycznie niższe we krwi chorych na raka niż we krwi osób zdrowych. W ocenie występowania polimorfizmów w genach ocenianych metaloproteinaz i ich inhibitora tkankowego nie zaobserwowano istotnych zależności pomiędzy badanymi wariantami w tkankach patologicznych i zdrowych.

Doktorant analizował także związek cech kliniczno-morfologicznych z badanymi parametrami molekularnymi i wykazał dla pojedynczych cech i parametrów istotne statystycznie zależności, tak jak dla niskiej wartości mRNA MMP-2 a okresem palenia papierosów powyżej 20 lat, mniejszej ekspresji mRNA MMP-7 u chorych z większą liczbą przerzutów. Wszystkie wyniki poparte są czytelными tabelami i wykresami.

W sekcji Dyskusja, Doktorant w przejrzysty sposób omawia uzyskane przez siebie wyniki i porównuje z dostępnymi pracami innych autorów oraz wskazuje różnice metodyczne tłumaczące rozbieżności w uzyskanych wynikach.

Na podstawie własnych badań Doktorant wyciągnął 3 wnioski odpowiadających przedstawionym wynikom. Autor dobrał prawidłowo aktualną i najnowszą literaturę zarówno w języku polskim i angielskim.

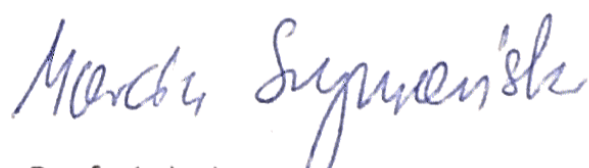
Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na kilka niedociągnięć i błędów edytorskich:

1. Autor podaje w wynikach istotny spadek masy ciała chorych po zabiegu, jednak bez informacji w jakim okresie po zabiegu do tego spadku doszło. Informacja taka mogłaby wskazywać na przyczynę tego spadku- zaburzenia połykania, rozsiew nowotworowy, przebyta radioterapia?
2. Tabela 5 zatytułowana została: „Korelacja między wybranymi danymi demograficznymi, a stopniem złośliwości nowotworu.”–, jednak nie przedstawia analizy korelacji, a tylko odsetek poszczególnych grup bez analizy statystycznej.

Powyższe uwagi nie umniejszają bardzo dużej wartości pracy i uzyskanych wyników. Praca Doktoranta stanowi istotny wkład w poznanie procesów progresji nowotworów głowy i szyi.

Podsumowując, cel pracy przedstawiony jest jasno, a odpowiedzi na postawione pytania Doktorant uzyskał stosując pracochłonne, nowoczesne metody badawcze. W dyskusji Lek dent. Artur Wróbel-Roztropiński w dojrzały i płynny sposób omawia własne wyniki. Wnioski wynikają z własnych badań Autora. Praca napisana jest zrozumiałym i poprawnym językiem. Lek dent. Artur Wróbel-Roztropiński wykazał się dużą wiedzą teoretyczną, umiejętnością stawiania problemów badawczych. Prawidłowo dobrał metody analizy i odpowiednio skonstruował wnioski z badania.

Praca 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” spełnia wymogi zgodnie z art.13 Ustawy z dn. 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.) w związku z art. 179 ust 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018. Przepisu wprowadzającej ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późniejszymi zmianami), dlatego wnioskuję o dopuszczenie lek dent. Artura Wróbla-Roztropińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Marcin Szymański