



Bydgoszcz, 08.08.2023

Ocena rozprawy doktorskiej lek. med. Jolanty Chmieleckiej-Rutkowskiej pod tytułem **"Warianty transkrypcyjne genów PTGS1 i PTGS2 u chorych z brodawczakiem odwróconym nosa i zatok przynosowych"**.

Przewlekłe procesy zapalne zatok przynosowych są jedną z najczęstszych przyczyn hospitalizacji i leczenia operacyjnego pacjentów na świecie jak również w Polsce. Rosnąca świadomość, nowoczesna diagnostyka oraz małoinwazyjnej metody leczenia umożliwiają bardziej precyzyjne rozpoznawania stanów chorobowych w tym zmian o charakterze brodawczaka odwróconego nosa i zatok często współwystępujących z przewlekłym zapaleniem zatok. Brodawczak odwrócony nosa i zatok jest najczęstszym nowotworem niezłośliwy tej lokalizacji jakkolwiek charakteryzuje się dużą częstością nawrotów oraz możliwością transformacji w proces złośliwy. Poznanie biologii guza, czynników epidemiologicznych oraz mechanizmów progresji odpowiedzialnej za nawroty schorzenia wydają się wysoce istotne w krótko i długoterminowej obserwacji chorego a tym samym odpowiednio wczesnej interwencji w przypadku podejrzenia wznowy.

Wysoce istotnym wydaje się podjęta przez Doktorantkę próba oceny wariantów transkrypcyjnych genów cyklooksygenazy oraz ich ekspresji w populacji chorych z brodawczakiem odwróconym nosa i zatok a chorych z przewlekłym zapaleniem zatok celem wykazania czynników predykcyjnych rozwoju i wznowy procesu chorobowego o podłożu brodawczaka odwróconego. Zagadnienie to jest tym bardziej ciekawe z uwagi, iż nie podejmowano do tej pory tego typu analizy.

Przedstawiona do oceny rozprawa liczy 180 stron zwartego tekstu oraz załączonego nośnika elektronicznego pracy i ma typowy układ dla dysertacji naukowych.

We wstępie Doktorantka w sposób zwięzły i jasny przedstawiła epidemiologię i etiopatogenezę brodawczaka odwróconego nosa i zatok zwracając między innymi uwagę na rolę przewlekłego stanu zapalnego oraz infekcji wirusem HPV w rozwoju schorzenia. Omówiła szereg czynników zapalnych i regulacji szlaków procesów zapalnych m.in. przez cyklooksygenazy przechodząc do uwarunkowań genetycznych mających udział w rozwoju procesu chorobowego.

W dalszej części Doktorantka omówiła klasyfikację histopatologiczną, podział na typy brodawczaka odwróconego z krótką charakterystyką poszczególnych typów, metody diagnostyki, ze zwróceniem uwagi na zasadność stosowania badania tomografii komputerowej i rezonansu magnetycznego oraz metod leczenia. W jasny sposób przedstawiła stosowane powszechnie klasyfikacje kliniczne oparte na badaniu tomografii komputerowej wg. Krouse, Hana, Cannady i Dragonetti-Minniego. W opisie schematu leczenia Doktorantka zwróciła uwagę na kluczową kwestię planowania leczenia z oceną punktu

UNIwersytet MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU



wyjścia brodawczaka, co warunkuje radykalne i skuteczne leczenie z ograniczeniem wznów choroby. W osobnym podrozdziale autorka szeroko omówiła problemy dotyczące wznowy brodawczaka odwróconego, wpływających na to czynników jak właściwa technika operacyjna, radykalność leczenia, pooperacyjny follow up jak również dużo uwagi poświęciła procesom transformacji nowotworowej brodawczaka.

Na koniec szeroko omówione zostały przez Doktorantkę zagadnienia dotyczące procesów metabolizmu kwasu arachidonowego, jednego z głównych czynników rozwoju i podtrzymywania stanu zapalnego, w tym zmian o charakterze przewlekłego zapalenia zatok i brodawczaka odwróconego jak również procesów nowotworowych. Za metabolizm odpowiedzialne są enzymy cyklooksygenaza 1 i 2 katalizujące te reakcje, kodowane przez gen PTGS1 i PTGS2, których to warianty transkrypcyjne stały się podstawą oceny w badaniach prowadzonych przez Doktorantkę.

Prezentowana wiedza Doktorantki w tym zakresie daje pełne podstawy by sądzić, że jest gruntownie przygotowana do przeprowadzenia zaplanowanych badań.

Jako cele pracy Doktorantka przyjęła:

- identyfikację wariantów transkrypcyjnych genów cyklooksygenazy 1 i 2 u pacjentów z brodawczakiem odwróconym oraz zapaleniem przewlekłym zatok,
- ocenę ekspresji znanych wariantów transkrypcyjnych tych genów w porównaniu chorych z brodawczakiem a przewlekłym zapaleniem zatok,
- ocenę ekspresji nowych, nieopisanych wariantów transkrypcyjnych tych genów w porównaniu chorych z brodawczakiem a przewlekłym zapaleniem zatok,
- analizę wpływu znanych i nowych wariantów transkrypcyjnych tych genów PTGS1 i PTGS2 na klinikę brodawczaka odwróconego oraz
- próbę wskazania wariantów transkrypcyjnych genów PTGS1 i PTGS2 odpowiedzialnych za fenotyp brodawczaka odwróconego.

Badania przeprowadzono na grupie 286 pacjentów, w tym 80 chorych z brodawczakiem odwróconym nosa i zatok i 206 chorych z przewlekłym zapaleniem zatok leczonych w latach 2009-2020 w Klinice Otolaryngologii i Laryngologii Onkologicznej UM w Łodzi. Przed przystąpieniem do badań uzyskano stosowną zgodę Komisji Bioetycznej RNN/164/17/KE z dnia 16 maja 2017 roku. Grupa kontrolna rekrutowała się z chorych z przewlekłym zapaleniem zatok u których dokonano analizy ekspresji transkrypcji genów PTGS1 i PTGS2 i dokładnie została ona opisana w wydanej publikacji, poz. 149 w piśmiennictwie. Grupę badaną stanowili chorzy z brodawczakiem odwróconym nosa i zatok, których szczegółowa charakterystyka została podana w rozdziale Materiał i Metoda niniejszej dysertacji. Do badań wykorzystano materiał biologiczny celem izolacji RNA z zastosowaniem zestawu High Capacity cDNA Archive Kit i narzędzie bioinformatyczne celem identyfikacji nowych form transkryptów genów PTGS1 i PTGS2. Analiza ekspresji genów PTGS1 i PTGS2 została przeprowadzona przy użyciu autorsko zaprojektowanych sond oligonukleotydowych. W obszarze genu PTGS1 zidentyfikowano pięć aktywnych transkryptów i odpowiednio trzy dla genu PTGS2. Umożliwiło to zaprojektowanie układu specyficznych startów powielających sekwencje każdego genu. Analiza znanych i nowych transkryptów genów została przeprowadzona w genetycznym analizatorze 7900HT Real Time PCR. Metoda dokładnie została opisana w podrozdziale dysertacji. Całość materiału została poddana analizie statystycznej z zastosowaniem pakietu Statistica.

W rozdziale omawiającym wyniki Doktorantka przedstawił szczegółowe analizy danych klinicznych badanej grupy, oraz charakterystykę występowania badanych wariantów transkrypcyjnych genów PTGS1 i PTGS2. Doktorantka zaobserwowała występowanie wszystkich badanych wariantów transkrypcyjnych genów zarówno u pacjentów z brodawczakiem odwróconym jak i przewlekłym zapaleniem zatok. U pacjentów z brodawczakiem wykazano wyższą korelację pomiędzy poszczególnymi wariantami w porównaniu do grupy kontrolnej. Badane nowe warianty transkrypcyjne wykazywały silną zależność dla grupy z brodawczakiem (szczególnie dla COX2.1 i COX2.2 i COX2.1 i COX2.5) w porównaniu z niższą dla chorych z przewlekłym zapaleniem zatok, co zostało szczegółowo przedstawione w rozdziale Wyniki. W dalszej części autorka przedstawiła wyniki ekspresji wariantów transkrypcyjnych genów w zależności od czynników epidemiologiczno-klinicznych. Doktorantka stwierdziła, iż pacjenci z niższą ekspresją (COX1.1, COX1.2, COX1.4, COX2.3) charakteryzują się większym prawdopodobieństwem wznowy brodawczaka.

Pragnę stwierdzić, że omawianie wyników badań z uwzględnieniem tak wielu parametrów klinicznych jest rzeczą niezmiernie trudną. Doktorantka to zadanie wypełnił dobrze.

Dyskusja jest rzeczowa i bardzo ciekawa. Doktorantka właściwie przedstawiła stan dotychczasowej wiedzy na temat rozpoznawania, leczenia i monitorowania brodawczaka odwróconego nosa i zatok. Celem badań było wykazanie wariantów transkrypcyjnych genów PTGS1 i PTGS2 wpływających na rozwój i przebieg brodawczaka odwróconego nosa i zatok w populacji polskiej. Wykazała jako pierwsza w dostępnej literaturze obecność współwystępowania wszystkich wariantów transkrypcyjnych genów PTGS1 i PTGS2 u pacjentów z brodawczakiem i przewlekłym zapaleniem zatok. Uzyskane wyniki w sposób krytyczny skonfrontowała z wynikami badań innych autorów. Uważam, że prowadzona w sposób problemowy dyskusja świadczy o dużej wiedzy merytorycznej i bardzo dobrym warsztacie naukowym. Zakres i sposób omawianej problematyki świadczy, iż Doktorantka gruntownie zapoznał się z omawianymi problemami.

Na podstawie bardzo szczegółowej analizy Doktorantka zaproponowała ważne, odpowiadające celom pracy wnioski.

Piśmiennictwo zawiera 233 pozycji, dobrze dobranych prac opublikowanych w czasopismach zagranicznych i krajowych. Pragnę podkreślić, że rozprawa doktorska zawiera również zwięzłe streszczenie w języku polskim i angielskim.

Jedynymi uwagami są drobne uchybienia, głównie stylistyczne, ora zbyt rozbudowana część dyskusji poświęcona roli cyklooksygenaz w innych procesach chorobowych, co powinno być uwzględnione w procesie publikacyjnym. Powyższe uwagi w żaden sposób nie pomniejszają wartości merytorycznej dysertacji naukowej.

Z ogromną przyjemnością zapoznałem się z treścią pracy i omawianą, tak ważną problematyką. Przedstawioną mi do recenzji pracę oceniam bardzo wysoko. Zaprezentowany materiał, sposób przeprowadzenia badań i prezentacji wyników świadczy, że lekarz medycyny Jolanta Chmielecka-Rutkowska posiadała wysokie umiejętności organizacji badań naukowych.





UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Nauk o Zdrowiu
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Otolaryngologii, Foniatrii i Audiologii
Szpital Uniwersytecki nr 2 im. dr. Jana Biziela
ul. Ujejskiego 75, 85-168 Bydgoszcz
tel. +48 52 365 55 80
klotolary@cm.umk.pl

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn.zm) oraz art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r oraz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Wnoszę do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarza medycyny Jolanty Chmieleckiej-Rutkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.

Z poważaniem

Prof. dr hab. n. med. Paweł Burduk