



RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ LEK. DAMIANA ZADWORNEGO pt. Badanie ekspresji microRNA w raku brodawkowym tarczycy w tkance nowotworowej oraz w surowicy krwi – czynnik prognostyczny choroby nowotworowej

Rak brodawkowy tarczycy to aktualnie najczęściej spotykany nowotwór tego gruczołu szczególnie u kobiet. Diagnostyka, która wyznacza zakres leczenia chirurgicznego zwykle nie stanowi problemu, ale wyniki BAC istotne w podjęciu ostatecznej decyzji mogą być fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne. To powoduje, że nadal poszukiwane są techniki i testy, które będą stanowić istotne znaczenie w podjęciu ścieżki terapeutycznej, a jednocześnie przyczynią się do wczesnego postawienia rozpoznania raka co stanowi kluczowe znaczenie w terapii, a to warunkuje skuteczne wyleczenie chorego. Tym właśnie problemem zajął się lek. Damian Zadworny w swojej rozprawie doktorskiej. Przedłożona mi przez Wysoką Radę Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi praca do recenzji p.t. Badanie ekspresji microRNA w raku brodawkowym tarczycy w tkance nowotworowej oraz w surowicy krwi – czynnik prognostyczny choroby nowotworowej ma typowy układ charakterystyczny dla tego typu opracowań i zawiera 96 stron jednostronicowego wydruku komputerowego. Do pracy jest dołączona dyskietka z zawartością rozprawy doktorskiej. W tekst wstępu wkomponowane są: 5 rycin, 11 tabel i 4 fotografie, a całość rozprawy jest zakończona streszczeniem w języku polskim i angielskim. We wstępie, który stanowi 34 strony Doktorant skrupulatnie opisał nowotwory tarczycy ze szczególnym zwróceniem uwagi na etiologię, występowanie, objawy i diagnostykę raka brodawkowego, a także ocenę nawrotu choroby po zastosowanym leczeniu z uwzględnieniem zawansowania procesu nowotworowego. Jeden z tych podrozdziałów dotyczy patogenezy tego nowotworu w kontekście miRNA i rolę tej cząsteczki w procesie carcinogenezy. Zależności najczęściej spotykanych w literaturze poziomów ekspresji miRNA w rakach tarczycy Lek. Damian Zadworny przedstawił w postaci ryciny 9 z odniesieniem do pozostałych typów nowotworów gruczołu tarczowego. Wyniki ekspresji wszystkich cząsteczek miRNA różnych autorów dla raka brodawkowego zarówno w surowicy, jak i tkance nowotworowej sam opracował i przedstawił w tabeli 10. W kolejnym podrozdziale przedstawił wstępne możliwości wykorzystania miRNA w terapii raka tarczycy, jak też opisał i porównał metody badawcze ekspresji miRNA. Wszystkie te informacje oparł na



81 pozycjach najnowszego, bo po roku 2000 piśmiennictwa anglojęzycznego czasopism o międzynarodowym zasięgu. Tak skrupulatna i dogłębna analiza piśmiennictwa pozwoliła lek. Damianowi Zadwornemu na wyznaczenie 4 celów do przeprowadzenia badań. Cele te są określone w sposób przejrzysty i obejmują identyfikację cząsteczek miRNA w raku brodawkowatym, ocenę poziomu ekspresji tych cząsteczek w surowicy krwi i tkance nowotworowej tego raka oraz dokonanie wykorzystania poszczególnych cząstek miRNA jako markerów w tym nowotworze. Materiał badawczy stanowili chorzy operowani z powodu raka brodawkowego tarczycy w Klinice Chirurgii Endokrynologicznej Wojewódzkiego Wielospecjalistycznego Centrum Onkologii i Traumatologii im. Mikołaja Kopernika w Łodzi w latach 2018-2023. Grupę odniesienia stanowią chorzy operowani z powodu wola guzowatego nietoksycznego. Protokół badania uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi. Do badań u wszystkich chorych pobierano wycinek z guza tarczycy i 4 ml krwi żyłnej przed zabiegiem operacyjnym. Badania wykonano w Zakładzie Genetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w dwóch etapach. Pierwszy etap to określenie poziomu ekspresji miRNA z użyciem paneli onkologicznych u 10 chorych z rakiem brodawkowatym tarczycy i 2 chorych z wolem nietoksycznym. Panel onkologiczny YAHS-102Y Autor rozprawy zaprezentował w czytelny sposób graficzny w tabeli nr 13 uwzględniając potencjalnie onkogenne miRNA, supresorowe miRNA w raku brodawkowatym tarczycy i geny referencyjne. Drugi etap badania to określenie poziomu ekspresji wybranych miRNA (miR -25-3p, miR -34a-5p, miR -196a-5p, miR -200c-3p, miR - 221-3p, miR -222-3p) metodą q-rtPCR po I fazie badania. Ten etap badania wykonano u 64 chorych z rakiem brodawkowatym i 20 z wolem guzowatym nietoksycznym. Poziomy ekspresji miRNA były określane w stosunku do ekspresji genu referencyjnego U6 snRNA. Użyta metodologia i zastosowane testy są opisane w kolejnym rozdziale rozprawy doktorskiej. Uzyskane wyniki badań zostały poddane analizie statystycznej z użyciem zaawansowanej statystyki z zastosowaniem jednoczynnikowego modelu regresji logistycznej wraz z krzywymi ROC. W tym miejscu chciałabym uzyskać informację od Doktoranta czy nie można było zastosować wieloczynnikowego modelu regresji logistycznej? Lek. Damian Zadworny oceny korelacji dokonał przy użyciu współczynnika Spearmana przyjmując za mocną dla współczynnika 0,60-0,79 i za bardzo mocną dla współczynnika 0,80-1,00. Poziom istotności statystycznej przyjęty jest typowo przy $p < 0,05$. Wyniki swoich badań Doktorant zaprezentował w sposób przejrzysty



i czytelny w formie 12 tabel i 43 rycin. Wyniki są odpowiedzią na postawione cele w zrealizowanej pracy badawczej. Należałoby tylko bardziej obszernie potraktować statystykę opisową poszczególnych grup tabel i rycin, co by zdecydowanie zwiększyło wartość dydaktyczną tego opracowania. Swoje wyniki Doktorant przedyskutował w sposób dojrzały, ale jednocześnie z pewną pokorą w stosunku do uzyskanych wyników przez innych autorów w 8 stronicowym rozdziale Dyskusja odnosząc się do wybranych spośród wymienionych 135 pozycji najnowszego piśmiennictwa anglojęzycznego. Nawiązuje On w różnym aspekcie do roli cząsteczki mikroRNA w potanskrypcyjnej regulacji ekspresji genów w chorobach nowotworowych, a także co jest bardzo istotne to udział ich w aktywacji szlaków sygnalizacyjnych w raku brodawkowym tarczycy. W dyskusji wskazuje również na alternatywne wykorzystanie wyników ekspresji poszczególnych cząsteczek miRNA w diagnostyce raka brodawkowego tarczycy. Z pozycji recenzenta uważam, że przeprowadzone badania i uzyskane wyniki nie zastąpią BAC lecz są doskonałym uzupełnieniem i posiadają olbrzymią wartość w diagnostyce różnicowej nowotworów tarczycy co może stanowić kluczową decyzję w określeniu rozległości zabiegu chirurgicznego. Spośród wyznaczonych 6 konkretnych microRNA w drugim etapie badania Lek. Damian Zadworny wykazał istotny wzrost ekspresji cząsteczki 200c-3p w surowicy krwi chorych z rakiem brodawkowym z jednoczesnym spadkiem ekspresji pozostałych 5. Natomiast w tkance nowotworowej istotny wzrost ekspresji dotyczył cząsteczki 34a-5p i 196a-5p, a istotny statystycznie spadek dotyczył miRNA 25-3p. Zarówno w surowicy krwi, jak i w tkance raka brodawkowego Doktorant swoje wyniki porównał do grupy odniesienia jaką byli chorzy operowani z wolem guzowatym nietoksycznym. Na podstawie przeprowadzonych badań własnych Lek. Damin Zadworny skonstruował i zakończył rozprawę 4 wnioskami, będącymi odpowiedzią na postawione cele. Z wniosków wynikają dalsze cele pracy badawczej, która powinna być kontynuowana, uzasadnieniem tego jest też zmienność biologiczna patogenezy i rozwoju raka nie tylko tarczycy, a także w terapii zastosowanie tych badań do oceny wrażliwości na niektóre formy leczenia. Zmiany ekspresji niektórych cząsteczek RNA mogą nam dać już możliwość prognozowania przebiegu choroby nowotworowej u chorych, a mianowicie przerzutowania do węzłów chłonnych, czy odległych narządów lub wznowy. Doktorant mimo, że wykazał się wielką starannością w przygotowaniu tej rozprawy doktorskiej nie uniknął sporadycznie pojawiających się błędów literowych i nieścisłości (str. 14 usunięcie



guza tarczycy to nie tyreoidektomia, tab. 2 pozycja piśmiennictwa to nie 109 tylko 6). Ponadto bardziej odpowiednie byłoby określenie nie grupa kontrolna, a grupa odniesienia bo przecież to byli chorzy z wolem guzowatym nietoksycznym. Mimo poczynionych przeze mnie uwag, które wynikają z obowiązku recenzenta w żaden sposób nie wpływają one ani nie obniżają wartości merytorycznej tej pracy badawczej. W podsumowaniu przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej p.t. Badanie ekspresji microRNA w raku brodawkowatym tarczycy w tkance nowotworowej oraz w surowicy krwi – czynnik prognostyczny choroby nowotworowej lek. Damiana Zadwornego stwierdzam, że jest ona starannie zaplanowaną i zrealizowaną pracą naukową pod kierunkiem specjalisty chirurgii endokrynologicznej Prof. Tomasza Stępnia. Doktorant w niej wykazał się znajomością problemu badawczego i jednocześnie samodzielnością w realizacji tej pracy badawczej, a także umiejętnością w rozwiązywaniu problemu i odpowiedzią na postawione cele. Rozprawa doktorska w pełni odpowiada warunkom stawianym pracom na stopień naukowy doktora nauk medycznych. Prezentowaną pracę oceniam bardzo dobrze i mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Nauk Medycznych Wydziału Lekarskiego UM w Łodzi wniosek o dopuszczenie Lek. Damiana Zadwornego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm.) w związku z art.179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz.1669 ze zmianami).

KIEROWNIK
Katedry i Kliniki Chirurgii Ogólnej
dr hab. n. med. Jadwiga Sparska
prof. UWM