

Poznań, 12.07.2019

Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Ziemnicka
Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii
i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego
w Poznaniu

Ocena osiągnięcia naukowego i aktywności naukowej
dr n. med. Małgorzaty Oczko-Wojciechowskiej
w postępowaniu habilitacyjnym

Dr n. med. Małgorzata Oczko-Wojciechowska w 2002 r. ukończyła studia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach uzyskując tytuł magistra na podstawie pracy pt. „Ukierunkowana mutageneza cDNA protoonkogenu RET w wektorach plazmidowych”. Po studiach została zatrudniona jako asystent naukowo-badawczy w Zakładzie Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach. W latach 2009-2017 była Zastępcą a od 2017 roku jest Kierownikiem Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej w tym Zakładzie.

Dr n. med. Małgorzata Oczko-Wojciechowska w 2015 roku uzyskała stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna na podstawie rozprawy pt. „Optymalizacja badań z wykorzystaniem oligonukleotydowych mikromacierzy DNA” a jej promotorem była prof. dr hab. n. med. Barbara Jarząb. W 2003 roku uzyskała także prawo wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego a w 2015 roku została specjalistą laboratoryjnej genetyki medycznej.

OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Podstawę osiągnięcia naukowego (rozprawy habilitacyjnej) dr n. med. Małgorzaty Oczko-Wojciechowskiej stanowi monografia pt. „ Ocena zastosowania klasyfikatora molekularnego w diagnostyce guzków tarczycy w minimalnej ilości materiału pobranego

1 

drogą biopsji cienkoigłowej” opublikowana w 2019 r. Celem pracy była ocena zastosowania ultra małych ilości materiału pozostającego w igle po biopsji cienkoigłowej guzków tarczycy do badania z wykorzystaniem klasyfikatora molekularnego opartego o ekspresję genów.

Monografia przedstawiona przez Habilitantkę ma układ typowy. Monografia ta obejmuje 128 stron, 7 wyodrębnionych rozdziałów głównych oraz Dyskusję, Podsumowanie i Wnioski oraz Piśmiennictwo. Założenia i wyniki pracy przedstawione są w 7 tabelach i na 20 rycinach. Piśmiennictwo zawiera 250 pozycji.

Na wstępie (rozdział: Założenia i cele pracy) habilitantka koncentruje się na opisie dotychczas odkrytych i wykorzystywanych w praktyce markerów molekularnych charakterystycznych dla raków zróżnicowanych tarczycy opartych o zmiany w sekwencji DNA, w tym rearanżacji *RET/PTC* czy *NTRK* ale także fuzji *ALK-STRN* czy mutacji genu *BRAF* (V600E), *PAX8*, *TERT*, *RAS* i wielu innych. Kolejne podrozdziały zawierają informacje na temat markerów molekularnych w raku onkocytarnym, anaplastycznym i niskozróżnicowanym raku tarczycy a także w łagodnych guzkach tarczycy. Drugą część tego rozdziału stanowi opis markerów molekularnych raków tarczycy opartych o zmianę w ekspresji genów z wyszczególnieniem klasyfikatora raka brodawkowego tarczycy, który został stworzony w Centrum Onkologii w Gliwicach w oparciu o jeden z największych banków próbek raka brodawkowego tarczycy na świecie. W badaniach tych Habilitantka miała również swój udział. Ten wstępny rozdział jest napisany zwięźle dostarczając jednocześnie wielu cennych informacji niezbędnych do uzasadnienia celu pracy. Cel pracy sformułowany na początku rozdziału ma swoje uzasadnienie i znaczenie praktyczne, gdyż często borykamy się z niedostateczną ilością materiału biologicznego do badań molekularnych w przypadkach różnych biopsji narządowych.

W kolejnym rozdziale – „Ocena zmian molekularnych w izolowanych komórkach guzów tarczycy metodą mikrodyssekcji laserowej” Autorka monografii opisuje znaczenie mikrodyssekcji w selektywnym pobraniu materiału z guza do badań molekularnych a także m.in. wyniki badań ekspresji określonych genów w różnych chorobach nowotworowych w materiale uzyskanym tą metodą. W następnym rozdziale znalazł się opis aktualnej klasyfikacji zmian w badaniu cytologicznym guzków tarczycy.

Ostatni rozdział we wstępie do pracy dotyczy diagnostyki molekularnej jako narzędzia wspomagającego rozpoznanie postawione na podstawie badania cytologicznego. Habilitantka opisuje tutaj m.in. dostępne komercyjnie testy molekularne zarejestrowane głównie w Stanach Zjednoczonych i oparte na ocenie specyficznych mutacji lub też na ocenie miRNA. Autorka opisuje tu także sposoby oceny przydatności testów molekularnych.

Cała ta wymieniona wyżej część monografii zawiera bardzo istotne informacje mające odniesienie do dalszych etapów pracy i świadczy o dużej znajomości tematyki badań molekularnych w różnicowaniu zmian nowotworowych tarczycy przez Habilitantkę. Piśmiennictwo do tej części jest dobrze dobrane i brak tu właściwie zbędnych informacji.

Część badawcza monografii zawiera materiał i metodykę oraz wyniki badania. Autorka opisuje w tej części metody pozyskiwania materiału do mikrodyssekcji, wybierając jedną z nich jako bardziej wiarygodną w przypadku równolegle wykonywanej analizy histopatologicznej (co pozwala np. uniknąć błędnego pobrania komórek spoza guza). Znajduje się tu także metodyka izolacji RNA i opis jakości otrzymanego izolatu. Brakuje jednak podania ilości otrzymanego RNA (w wynikach są tylko dane dotycząca jego stężenia) z mikrodyssekcji a jest to istotna informacja w kontekście wykorzystania tej metody w celu uzyskania materiału do dalszych badań molekularnych. Kolejny etap opisanych przez Habilitantkę badań to właśnie analiza transkryptomu pojedynczej komórki raka brodawkowego tarczycy – choć tutaj byłabym ostrożna z używaniem określenia „pojedyncza komórka” gdyż do badań wykorzystywano próbki wielokomórkowe, które mogły zawierać tyreocyty zmienione nowotworowe na różnym etapie różnicowania i wobec tego z różną ekspresją. Nie ma to szczególnie istotnego znaczenia dla celu pracy i wyników badań molekularnych tym niemniej nie wydaje się aby to określenie było właściwe. Materiał wyizolowany metodą mikrodyssekcji posłużył Autorce do badań z zastosowaniem mikromacierzy oligonukleotydowych celem selekcji genów z ekspresją charakterystyczną dla raka brodawkowego tarczycy, czego dokonano i co miało posłużyć do oceny ekspresji w materiale uzyskanym z biopsji cienkoigłowej. Kolejnym etapem pracy było badanie transkryptomu komórek raka brodawkowego tarczycy ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym. Chciałabym w tym momencie zwrócić uwagę, że użyty w odniesieniu do tej reakcji skrót: RT-QPCR to jakościowa reakcja łańcuchowa polimerazy z użyciem odwrotnej transkryptazy (Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) co nie jest równoznaczne z *real-time qPCR* o co zapewne chodziło Autorce. W tej części pracy brakuje także podania uzasadnienia dla wykorzystania jako kontroli w ocenie ekspresji genu *HADHA* a nie np. *GAPDH*, typowego „housekeeping gene”. W dalszym etapie pracy Habilitantka oceniała przy pomocy metody z wykorzystaniem mikromacierzy transkryptom komórek pozostałych w igle po wykonaniu biopsji po użyciu części tego materiału do badań cytologicznych i z komórek z biopsji równoległej. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej.

Wyniki badań jednoznacznie wskazują, że istnieje możliwość uzyskania materiału do badań molekularnych nawet z niewielkiej ilości komórek pozostałych w igle po biopsji

cienkoigłowej ale niezbędna do tego jest odpowiednia metodyka badań, m.in. wykorzystana tu przez Habilitantkę metoda podwójnej amplifikacji. Badania prowadzone na materiale z mikrodyssekcji pozwoliły na wyodrębnienie 9 genów charakterystycznych dla raka brodawkowego tarczycy w tym 7 z ekspresją różnicującą tyreocyty zdrowe od nowotworowych. Autorka wykazała także wpływ podścieliska tarczycy na profil ekspresji genów charakterystycznych dla raka brodawkowego tarczycy. Mimo, że znacznie większą ilość materiału do badania uzyskano z biopsji pełnych to co pozostało w igle po użyciu części materiału do badań cytologicznych wystarczyło Autorce do badań molekularnych. Jest to szczególnie cenna informacja, gdyż często nie istnieje możliwość wykonania ponownego pobrania materiału z guzka i w dodatku z tego samego miejsca. Mam dwie uwagi do rozdziału „Wyniki” – otóż Habilitantka wspomina w nim o ekspresji transkryptów podczas gdy ekspresji ulega gen a transkrypt jest tej ekspresji wyrazem. Idąc dalej mowa jest o „146 transkryptach, które charakteryzowały się zmienną ekspresją” – zdanie to jest nieprawidłowe i niejasne - m.in. brak informacji o genach, których ekspresja różniła się znacząco w tyreocytach zdrowych i zmienionych nowotworowo.

Dyskusja przeprowadzona została prawidłowo i stanowi ciekawy rozdział pracy. Piśmiennictwo zostało dobrze dobrane i odzwierciedla rzeczywisty stan badań nad zastosowaniem klasyfikatorów molekularnych i odpowiedniej metodyki badań molekularnych w ocenie zmian nowotworowych tarczycy.

Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego chcę podkreślić, że wybór tego interesującego i bardzo potrzebnego nowego w Polsce tematu, trafny dobór materiału badawczego jak i metodyki badań a także poprawne przedstawienie i interpretacja wyników analiz świadczą o dojrzałości i samodzielności naukowej Habilitantki. Bardzo istotne znaczenie ma tu możliwość wykorzystania wyników badań w praktyce co stawia tę pracę wysoko w kategoriach nie tylko naukowych. Tak jak wspomniała o tym Habilitantka dotychczas zarejestrowane klasyfikatory molekularne opierają się głównie na analizie mutacji DNA i przez to, że zostały opatentowane za granicą ich cena jest wysoka. Należy mieć nadzieję, że metoda oceny ekspresji określonych genów wyselekcjonowanych w trakcie prowadzonych przez Habilitantkę badań po pierwsze będzie bardziej dokładna a po drugie znacznie tańsza co umożliwiłoby wprowadzenie jej jako rutynowego testu przedoperacyjnego. Jest to szczególnie ważne gdyż nadal ok. 80% zabiegów operacyjnych tarczycy niekoniecznie powinno być przeprowadzonych. Badania prowadzone przez Habilitantkę zostały wykonane jako część projektu MILESTONE finansowanego przez NCBiR (STRATEGMED2/267398/4/NCBR/2015).

OCENA DOROBKU NAUKOWEGO

Doktor nauk medycznych Małgorzata Oczko-Wojciechowska jest współautorem 44 publikacji o łącznym współczynniku oddziaływania (IF) 95,832 i punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego - 871 (12.2018). Liczba cytowań prac, w których jest współautorem osiągnęła 510 a indeks Hirscha wg Web of Science wynosi 11. Dr Oczko-Wojciechowska jest pierwszym autorem w 3 pracach oryginalnych a w 4 pracach jest drugim autorem. Do chwili obecnej brała udział w realizacji 16 projektów naukowych w tym 12 finansowanych przez KBN, MNiSW, NCN i NCBiR przy czym w 1 projekcie była jego kierownikiem.

Poza osiągnięciem naukowym do głównych tematów badawczych Habilitantki należały i obecnie należą m.in. wymienione niżej zagadnienia :

1. Diagnostyka molekularna raków zróżnicowanych – selekcja markerów molekularnych charakterystycznych dla raka brodawkowatego i pęcherzykowego tarczycy oraz wspomagających różnicowanie między zmianami złośliwymi a łagodnymi.

Badania te m.in. określiły częstość występowania rearanżacji genu *RET* (*RET/PTC1* i *RET/PTC3*) w raku brodawkowatym tarczycy i były pierwszymi takimi badaniami wykonanymi u osób z polskiej populacji. Wykazano także różnice w ekspresji genów zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną pomiędzy rakiem brodawkowatym tarczycy a tarczycą niezmienną nowotworowo. W ramach tego zagadnienia Habilitantka brała także udział w analizie korelacji mutacji genu *BRAF* V600E oraz mutacji promotora genu *TERT* ze stopniem zaawansowania raka brodawkowatego tarczycy u chorych z Polski. Badania te nie potwierdziły wcześniejszych doniesień z piśmiennictwa światowego o korelacji większego stopnia zaawansowania nowotworu z mutacją V600E natomiast udowodniły tę korelację w przypadku mutacji promotora *TERT*. Ponownie były to pierwsze takie badania w populacji polskiej.

2. Diagnostyka molekularna raka rdzeniastego tarczycy – selekcja markerów molekularnych charakterystycznych dla tego nowotworu. W ramach tego zagadnienia Habilitantka brała udział m.in. w analizie somatycznych mutacji genów *RET* i *H-RAS* a także w ocenie transkryptomu dziedzicznego i sporadycznego raka rdzeniastego tarczycy (największe jak do tej pory badanie tego typu) wykazując m.in. brak różnic w

ekspresji genów pomiędzy postacią sporadyczną a dziedziczną raka rdzeniastego tarczycy.

3. Poszukiwanie markerów molekularnych diagnostycznych i predykcyjnych w innych nowotworach – m.in. rak piersi, rak krtani, ostra białaczka limfoblastyczna u dzieci. Badania te m.in. doprowadziły do wyselekcjonowania 4 genów (*ADAM12*, *2-CDK2*, *KIF14* i *CHES1*), których ekspresja do tej pory nie była wykazywana w raku krtani.

OCENA DOROBKU DYDAKTYCZNEGO

Dr n. med. Małgorzata Oczko-Wojciechowska była opiekunem dwóch doktorantów przygotowujących prace doktorskie w ramach Międzynarodowych Studiów Doktoranckich „Molecular genomics, Transcriptomics and Bioinformatics in Cancer” w Zakładzie Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej CO w Gliwicach w latach 2008-2012. Nadzorowała także wykonanie dwóch prac magisterskich. Obecnie jest także promotorem pomocniczym pracy doktorskiej w ramach projektu MILESTONE. Dr Oczko-Wojciechowska była także wykładowcą Letniej Szkoły Cytologii Tarczycy w 2017 r. Uczestniczyła również jako wykładowca w warsztatach „Endocrinology Meets Cancer” w ramach kongresu European Society of Endocrinology w 2014 r.

OCENA DOROBKU ORGANIZACYJNEGO

Dr Małgorzata Oczko-Wojciechowska wielokrotnie była współorganizatorką ogólnopolskiej Konferencji Naukowo-Szkoleniowej „Rak tarczycy i inne nowotwory złośliwe układu wydzielania wewnętrznego”. Brała także udział w organizacji Letniej Szkoły Cytologii Tarczycy i Konferencji Naukowej „Cytologia i biologia molekularna zmian w tarczycy – od wirtualnej diagnostyki cytologicznej do decyzji o deeskalacji modelu terapii” w 2017 roku w CO w Gliwicach. Dr Oczko-Wojciechowska była także członkiem Komitetu Organizacyjnego konferencji Europejskiego Towarzystwa Tarczycowego (ETA) w 2011 roku w Krakowie oraz Sekretarzem ETA-CRN (European Thyroid Association – Cancer Research Network. Jako Sekretarz ETA-CRN uczestniczyła w organizacji konferencji ETA w latach 2014-2018.

PODSUMOWANIE

Biorąc pod uwagę znaczący, nowatorski i bardzo spójny dorobek naukowy o dużej wartości poznawczej i ogromnym potencjale praktycznego zastosowania a także osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne dr n. med. Małgorzaty Oczko-Wojciechowskiej uważam, że są one zgodne z wymogami obowiązującej ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym. W związku z tym przedkładam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie o dopuszczenie dr n. med. Małgorzaty Oczko-Wojciechowskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

12.07.2018

Data



Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Ziemnicka

SZPITAL KLINICZNY
im. H. Święcickiego
U.M. w Poznaniu
ODDZIAŁ KLINICZNY ENDOKRYNOLOGII
PRZEMIANY MATERII I CHOROBY WĘWNETRZNYCH
60-356 Poznań, ul. Przybyszewskiego 49
tel. 61 869-13-30, fax 61 869-16-82
REGON 000288834, NIP 779-20-33-466
150003181/03/1/0039/0/12/16
30-90141-01-007 (1528)