



WARSZAWSKI
UNIwersytet
Medyczny

KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII

WARSZAWSKI
UNIwersytet Medyczny
WYDZIAŁ LEKARSKI
KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII
Ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa
tel. 57-20-693. fax 57-20-679

Warszawa, dn. 10.08.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lek. med. Katarzyny Stawarz

wykonanej pod kierownictwem naukowym Promotor, dr hab. Elżbiety Sarnowskiej, Prof.
Instytutu i Promotor pomocniczej dr n. biol. Natalii Rusteskiej.

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Stawarz dotyczy badań nad zmianami molekularnymi w raku gruczołowo-torbielowatym (ang. adenoid cystic carcinoma; ACC) gruczołów ślinowych. Podjęty w pracy doktorskiej problem badawczy uważam za bardzo trafny, a wnioski płynące z wyników badań mają nie tylko wartość poznawczą, ale również translacyjną.

ACC gruczołów ślinowych to zróżnicowany histologicznie rzadko występujący nowotwór dużych i małych gruczołów ślinowych charakteryzujący się stosunkowo wolnym wzrostem. ACC stanowi około 10% nowotworów głowy i szyi i mniej niż 1% nowotworów złośliwych tego regionu. ACC jest drugim co do częstości nowotworem złośliwym gruczołów ślinowych (22%) i stanowi ok. 10 % wszystkich guzów gruczołów ślinowych. Charakteryzuje się powolnym wzrostem oraz skłonnością do częstych wznów miejscowych, a także dawania przerzutów odległych nawet wiele lat po zakończeniu leczenia. ACC cechuje się niską immunogennością i niewielkim odsetkiem limfocytów T naciekających mikrośrodowisko guza.

Rozprawa doktorska liczy 112 stron i posiada typowy układ pracy doktorskiej, który obejmuje: wykaz stosowanych skrótów, wstęp, założenia i cele pracy, materiał, metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis rycin i tabel i piśmiennictwo.

Merytoryczna ocena pracy doktorskiej

Wstęp stanowi obszernie opracowanie poglądowe dotyczące epidemiologii, klasyfikacji oraz etiologii ACC gruczołów ślinowych, a także metod diagnostycznych, leczenia podstawowego i immunoterapii. Szczegółowo opisano rolę limfocytów T naciekających nowotwór (TILs), a także mechanizmy molekularne związane z karcynogenezą i progresją guza takie jak: metylacja RNA, rola kompleksu remodulującego chromatynę, rola reduktazy rybonukleotydowej i kompleksu NTC.

Założenia i ambitny cel pracy zostały sformułowane w sposób jasny i czytelny. Na wyróżnienie w mojej ocenie zasługuje fakt przeprowadzenia badań nad rzadko występującym nowotworem złośliwym regiony głowy i szyi jakim jest ACC gruczołów ślinowych, który jednocześnie wykazuje stosunkowo niską immunogenność co pozycjonuje go jako trudny, ale ciekawy model badawczy.

Istotą dysertacji była ocena limfocytów T naciekających nowotwór i ich wpływu na rokowanie pacjenta oraz ocena występowania białek metabolizmu i regulacji mRNA w komórkach guza. W badaniach uwzględniono następujące kryteria: 1) ocena nacieku TILs, w szczególności nacieku limfocytów TCD4 i CD8 i sprawdzenie zależności korelacji z czasem przeżycia u pacjentów z ACC; 2) przeprowadzenie analizy ilości białek METTL3, METTL14, WTAP, BRM, RRM2, PRP19, CDC5L, PLRG1 w guzie pierwotnym, wznowie miejscowej, przerzucie odległym u chorych na ACC; 3) ocena zależności pomiędzy wynikami ekspresji białek: METTL3, METTL14, WTAP, BRM, RRM2, PRP19, CDCL5, PLRG1 oraz danymi kliniko-patologicznymi chorych z okresu obserwacji.

Dokładnie zaprojektowane badanie miało charakter retrospektywny. Na materiale wybranym do badań oprócz badania immunohistochemicznego, ocenie poddano także kliniko-patologiczne dane chorych takie jak wariant histopatologiczny oraz cechę TNM. Uwzględniono również takie czynniki konstytucyjne jak wiek i płeć. Na podstawie tych danych został opracowany model wskazujący, który z czynników jest istotny w analizie wielkoskalowej. Na wyróżnienie w mojej ocenie zasługują trafnie dobrane metody badawcze w tym analizy statystycznej oraz czytelny sposób prezentacji uzyskanych wyników badań. Pomimo bardzo przejrzystego przedstawienia zagadnień w pracy Doktorantka nie ustrzegła się kilku błędów edytorskich. Brakuje również informacji o zgodzie Komisji Bioetycznej na przeprowadzone

badania lub informacji, że zgoda nie jest wymagana ze względu na pracę na histopatologicznym materiałem archiwalnym.

W rozdziale „Wyniki” zaprezentowano rezultaty dysertacji przedstawione pod postacią wykresów, tabel i reprezentatywnych rycin. Imponująca ilość przeprowadzonych analiz przekłada się na objętość rozdziału i wskazuje na dużą pracowitość Doktorantki w trakcie realizacji ambitnego projektu badawczego. Zważywszy na stosunkowo rzadkie występowanie ACC analizie poddano 48 próbek pacjentów z ACC leczonych w Narodowym Instytucie Onkologii.

W ramach przeprowadzonych badań wykazano, że ACC gruczołów ślinowych charakteryzuje się skąpym naciekiem limfocytarnym z przewagą limfocytów T CD4+ nad limfocytami cytotoksycznymi CD8+ w swoim mikrośrodowisku. ACC cechuje się zaburzeniami ekspresji podjednostek kompleksu remodelującego chromatinę – BRM. Ponadto wykazano, że białko BRM ulega nadekspresji w ACC gruczołów ślinowych co powoduje zaburzoną regulację struktury chromatinę. Wysoki poziom białka BRM koreluje z niskim odsetkiem limfocytów T CD8+ naciekających mikrośrodowisko raka. Rak gruczołowo – torbielowaty gruczołów ślinowych wykazuje zaburzenia białek odpowiedzialnych za proces metylacji RNA, w tym Białka METTL3, METTL14, WTAP ulegają zwiększonej ekspresji w komórkach raka. Wykazano również, że spośród wszystkich badanych białek biorących udział w procesie metylacji, jedynie białko WTAP wykazuje związek z rokowaniem. Wzrost poziomu białka WTAP o jedną jednostkę zwiększał ryzyko zgonu o 2%. ACC gruczołów ślinowych cechuje się zaburzeniami podjednostek wchodzących w skład NTC - Prp19, CDC5l, PLRG1 cechują się podwyższoną ekspresją w komórkach raka. Ryzyko zgonu z podtypem litym było o 5,71 razy większe w porównaniu do podtypu sitowatego czy cewkowego. Stadium T3 i T4 wiąże się z niepomyślnym rokowaniem chorych z ACC. METTL 14 wiąże się z niepomyślnym rokowaniem. Wykazano również, że wzrost poziomu METLL14 o jedną jednostkę zwiększa ryzyko zgonu o 3%. Jedyną uwagą recenzenta do pokazanych wyników barwień immunohistochemicznych jest brak ujęcia ujemnej kontroli barwienia co powinno być zawarte podczas przygotowywania pracy do publikacji.

W rozdziale „Dyskusja” Autorka dysertacji konfrontuje własne wyniki z rezultatami uzyskanymi przez innych autorów. Rozdział ten oceniam wysoko, ponieważ znamionuje on zdolność Doktorantki do wnikliwej analizy literatury przedmiotu odnoszącej się do zagadnień z zakresu nauk podstawowych, translacyjnych i klinicznych oraz umiejętności obiektywnej

oceny rezultatów badań własnych, a także wskazania ich ograniczeń. Dowodzi to umiejętności Doktorantki do syntezy uzyskanych wyników oraz krytycznego do nich podejścia przy jednoczesnym wyakcentowaniu ich potencjalnej przydatności klinicznej.

Dysertacje wieńczą wnioski, które są spójne z założeniami i celami pracy i uprawnione uzyskanymi wynikami badań. Prawidłowo napisano streszczenie w języku polskim i angielskim. Starannie przygotowana bibliografia obejmuje 151 pozycji ułożona jest według kolejności cytowania. Dobór cytowań jest właściwy i świadczy o dobrej znajomości tematyki przez Doktorantkę

Zawarte w recenzji uwagi nie wpływają na bardzo pozytywną ocenę tej dysertacji, lecz mają jedynie charakter redakcyjny i mogą zostać wykorzystane podczas przygotowywania pracy do publikacji w czasopiśmie posiadającym współczynnik oddziaływania. Fakt przeprowadzenia badań w ośrodku o najwyższym stopniu referencyjności pozwala mieć nadzieję, że uzyskane wyniki zostaną upowszechnione, a w przyszłości znajdą zastosowanie w praktyce klinicznej.

Wniosek podsumowujący recenzenta

Podsumowując uważam, że lek med. Katarzyny Stawarz osiągnęła stawiane sobie cele naukowe i spełnia warunki określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

W związku z powyższym wnioskuję do Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie lek med. Katarzyny Stawarz do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie jej rozprawy doktorskiej.

WARSZAWSKI
UNIwersytet Medyczny
WYDZIAŁ LEKARSKI
KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII
Ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa
tel. 57-20-693. fax 57-20-679

Dr hab. n. med. Mirosław Szczepański
specjalista otolaryngolog
6569273

dr hab.n.med. Mirosław Szczepański