Płk prof. zw. dr hab. n. med. Grzegorz Kamiński Warszawa, dnia 1.08.2018 r.

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lek. Moniki Szymonek pt.: „ Analiza porównawcza metod immunohistochemicznych oraz metod molekularnych w ocenie występowania mutacji BRAF V600E w raku brodawkowatym tarczycy ".

Rak brodawkowaty tarczycy jest najczęstszym nowotworem złośliwym gruczołów wydzielania wewnętrznego. Większość chorych po przeprowadzeniu odpowiedniego leczenia osiąga trwałą remisję choroby, ale jest grupa chorych zagrożona niekorzystnym przebiegiem klinicznym raka. Trwają badania nad ustaleniem molekularnych czynników rokowniczych, które mogłyby poprawić stratyfikację ryzyka złej prognozy i wskazać chorych wymagających intensywnego leczenia adekwatnego do spodziewanego agresywnego przebiegu choroby. Aktywująca mutacja p.V600E w genie *BRAF* jest najczęściej identyfikowanym zaburzeniem genetycznym w komórkach raka brodawkowatego tarczycy i charakteryzuje się dużym potencjałem onkogenetycznym. Badania nad występowaniem tej mutacji w guzie pierwotnym i jej znaczeniem w powstawaniu raka brodawkowatego tarczycy oraz wpływem na przebieg kliniczny choroby prowadziły do niejednoznacznych wniosków. W doniesieniach wykazywano różnice w częstości występowania mutacji w komórkach tego typu raka tarczycy. W części badań stwierdzono związek pomiędzy obecnością mutacji p.V600E w genie *BRAF* w ognisku pierwotnym nowotworu a agresywnymi cechami raka i śmiertelnością chorych, w innych – nie potwierdzano takiej zależności. Rozbieżność otrzymanych wyników może wynikać z użycia w tych badaniach różnych metod immunohistochemicznych i molekularnych w rozpoznawaniu tej mutacji. Z tego względu bardzo istotnym i aktualnym jest temat pracy oryginalnej, która wchodzi w skład cyklu publikacji przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej.

Praca ta miała na celu:

1. Ocenę metody immunohistochemicznej (IHC) w wykrywaniu mutacji *BRAF V600E* w raku brodawkowatym tarczycy (RBT) z użyciem mysiego przeciwciała monoklonalnego (klonu Ve1) z zastosowaniem dwóch alternatywnych protokołów barwienia.
2. Porównanie częstości wykrywania mutacji *BRAF V600E* metodami biologii molekularnej SEQ i qPCR.
3. Analizę zgodności wyników uzyskanych róznymi metodami
4. Korelację wyników uzyskanych metodą IHC-2 BRAF + wraz z oceną siły odczynu z cechami kliniczno – patologicznymi RBT.
5. Rozważenie możliwości zastąpienia badania molekularnego metodami IHC w rozpoznawaniu mutacji *BRAF V600E* w RBT.

Na podstawie uzyskanych wyników wyciągnięto następujące wnioski:

1. Nie istnieje wystarczająca zgodność wyników uzyskanych metodą IHC i biologii molekularnej. Z tego względu, metoda IHC nie może zastąpić badań molekularnych w rozpoznaniu mutacji *BRAF V600E* w RBT, także nie może być traktowana jako badanie wstępne do późniejszej weryfikacji metodami molekularnymi
2. Nie znaleziono dodatkowych korzyści wykrywania mutacji *BRAF V600E* w RBT z uzyciem metod IHC z powodu braku korelacji siły odczynu z cechami kliniczno – patologicznymi.

Uwagę zwraca fakt, iż do tej pory opublikowano tylko niewiele prac, w których porównano trafność wykrywania mutacji *BRAF V600E* metodą immunohistochemiczną i metodami molekularnymi z zastosowaniem techniki *Next Generation Sequencing Real Time PCR* – uznanymi jako *złoty standard.* Uznawano dotychczas, że metoda immunohistochemiczna jest powszechnie dostępna, tania i może zastąpić metody molekularne.

Z tego względu przedstawiona mi do oceny rozprawa wnosi istotny oryginalny wkład w rozwój nauki, bowiem Atorka udawadnia w niej nieprzydatnośc metody immunohistochemicznej w wykrywaniu mutacji *BRAF V600E* w praktyce klinicznej.

Umieszczona w recenzowanym przeze mnie cyklu publikacji praca poglądowa dotyczy leczenia i monitorowania chorych na raka zróżnicowanego tarczycy. Zwraca w niej szczególna uwagę zmiana dotychczas stosowanej strategii polegająca na indywidualizacji postępowania w oparciu o ocenę ryzyka złego przebiegu klinicznego oraz dynamicznej stratyfikacji ryzyka, która uwzględnia nowe dane kliniczne, sposób odpowiedzi na dotychczasowe leczenie oraz biologię nowotworu. Praca ta stanowi najnowsze, pełne podsumowanie wiedzy dotyczącej postępowania u chorych na zróznicowanego raka tarczycy, które jest bardzo przydatne w codziennej pracy klinicznej.

Całość przedstawionego mi do oceny dorobku naukowego potwierdza moje spostrzeżenia, że lek. Monika Szymonek jest świetnie zorientowana w tematyce poruszanej w pracach, potrafi właściwie zaplanować badanie, konsekwentnie go przeprowadzić i wyciągnąć właściwe wnioski. Z przyjemnością stwierdzam, że nie znalazłem w ocenianym cyklu prac żadnych niedociągnięć.

Bardzo dobrze oceniając przedstawiony mi cykl prac na stopień doktora nauk medycznych lek. Moniki Szymonek pt.: „ Analiza porównawcza metod immunohistochemicznych oraz metod molekularnych w ocenie występowania mutacji BRAF V600E w raku brodawkowatym tarczycy "uważam, że odpowiada on wymogom stawianym do uzyskania stopnia doktora nauk medycznych i w związku z tym mam zaszczyt wnieść przed Wysoką Radę Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie Kandydatki do publicznej dyskusji nad rozprawą.

Z wyrazami szacunku

Profesor zwyczajny - Kierownik Kliniki
Endokrynologii i Terapii Izotopowej
Centralnego Szpitala Klinicznego MON
Wojskowego Instytutu Medycznego
płk prof. dr hab. n. med. Grzegorz KAMIŃSKI