



UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI

w Olsztynie

WYDZIAŁ NAUK MEDYCZNYCH

Kierownik Katedry i Kliniki Chirurgii Ogólnej

Prof. nadzw. dr hab. n. med. Jadwiga Snarska

10-228 Olsztyn ul. Wojska Polskiego 37

Olsztyn, 27 lipiec 2016r.

Recenzja rozprawy doktorskiej Mgr Justyny Zińczuk p.t. "Ocena ekspresji białek regulatorowych cyklu komórkowego w zmianach przedrakowych zewnątrzwydzielniczej części trzustki"

Uwzględniając zachorowalność i umieralność na nowotwory złośliwe trzustki szczególnie przerażająca jest wizja śmiertelności i brak postępu we wczesnej diagnostyce i leczeniu tej choroby. "Rak trzustki to cichy zabójca" jak twierdzą onkolodzy i media. 80% chorych trafia do leczenia chirurgicznego w znacznym stopniu zaawansowania, a jest to niezwykle agresywny rak, gdyż zmiana sama w sobie może być niewielka, natomiast wokół margines zapalny znaczny, co nie odzwierciedla wielkości guza, ponadto już ta nawet bardzo mała zmiana daje przerzuty do okolicznych węzłów chłonnych, a nawet do narządów odległych w dość szybkim czasie i naciekanie okolicznych narządów, a szczególnie naczyń. Zmiany 1-2 cm głównie zlokalizowane w głowie trzustki usunięte chirurgicznie radykalnie podczas bardzo rozległej, obciążonej dużym odsetkiem powikłań pooperacyjnych też nie zapewniają wysokiego odsetka przeżyć tylko go wprost proporcjonalnie zwiększają. Praca jest poprzedzona rozbudowanym bo aż 60 stronicowym wstępem. Doktorantka mgr Justyna Zińczuk bardzo skrupulatnie potraktowała etiologię i patogenezę raka trzustki z uwzględnieniem wieloczynnikowego nowotworzenia w zależności od czynników środowiskowych, uwarunkowań genetycznych i stanów przednowotworowych. Pod względem histologicznym opisała szczegółowo w oparciu o najnowsze dane z literatury nowotwory łagodne i stany zapalne, a także inne np. torbiele śluzowe będące podłożem do powstania głównie raka gruczołowego zewnątrzwydzielniczej części trzustki. Ten nowotwór złośliwy stanowi 95% wszystkich raków tego gruczołu. Dużą część wstępu stanowi dokładnie opisany cykl komórkowy z poszczególnymi fazami, który jest niezwykle skomplikowany z jego złożoną regulacją. Zaprezentowane to jest w postaci dołączonej ryciny ze stron internetowych. W dalszych rozdziałach wstępu Mgr Justyna Zińczuk skupiła się na białkach regulatorowych takich jak : Białko PCNA z uwzględnieniem wszystkich możliwych białek wiążących się z PCNA: Białko Ki67, Cyklina D1, Białko p16INK4A, Białko p21, Białko p53 z uwzględnieniem ich udziału w poszczególnych fazach cyklu komórkowego przy nowotworzeniu. Nagromadzenie tych białek w określonych częściach komórki może być markerem agresywności guza, czynnikiem sprzyjającym przerzutowaniu, czy wznowie miejscowej co ma wpływ na rokowanie i ewentualną wrażliwość na chemio czy radioterapię. Ten tak znacznie rozbudowany i opracowany wstęp oparty na 87 pozycjach piśmiennictwa w tym 84 to piśmiennictwo najnowsze bo od 2000 roku i prawie w całości anglojęzyczne jest doskonałą podstawą do wytyczenia celu pracy, ponadto świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia pracy badawczej i odpowiedzi na postawione pytania.

WPŁYNEŁO DO DZIEKANATU
Wydziału Nauk o Zdrowiu

dnia 1.08.2016 R. imię

Przedłożona mi przez Wysoką Radę Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku rozprawa doktorska ma typowy układ charakterystyczny dla tego rodzaju opracowań. Komputerowy wydruk pracy jest jednostronny i liczy 141 stron z wkomponowaną w tekst dokumentacją fotograficzną, rycinami i tabelami, a zakończona jest dość obszernym streszczeniem w języku polskim i angielskim. Wyznaczony cel pracy badawczej poprzedzony jest założeniami i jest jasno sprecyzowany w postaci 6 punktów co do rozwoju i progresji zmian przednowotworowych w kierunku raka. Mgr Justyna Zińczuk za cel swojej rozprawy doktorskiej przyjęła:- ocenę obecności i stopnia zaawansowania śród nabłonkowej neoplazji trzustki zmian patologicznych o charakterze łagodnym, - korelację pomiędzy obecnością, a stopniem zaawansowania śród nabłonkowej neoplazji trzustki, a wybranymi parametrami klinicznymi i histopatologicznymi, - ocenę ekspresji wybranych białek regulatorowych cyklu komórkowego w prawidłowych przewodach trzustkowych i w śród nabłonkowej neoplazji, - analizę ekspresji tych białek w odniesieniu do stopnia zaawansowania śród nabłonkowej neoplazji trzustki i danych kliniczno-histopatologicznych tych chorych, - porównanie ekspresji białek regulatorowych pomiędzy poszczególnymi zmianami patologicznymi i prawidłowymi przewodami trzustkowymi, - oraz wzajemnej korelacji pomiędzy ekspresją badanych białek regulatorowych, a cyklem komórkowym.

Kolejny rozdział to: Materiał i metody. Grupę badaną stanowiło 70 chorych leczonych operacyjnie z powodu różnych zmian patologicznych trzustki w latach 2006-2014 w II Klinice Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Przedział wiekowy chorych dość rozległy bo od 23 do 84 lat, a wśród nich było 33 mężczyzn i 37 kobiet. Charakterystyka grupy badanej z uwzględnieniem choroby zasadniczej, lokalizacją zmian patologicznych gruczołu trzustkowego zawarta jest w przejrzystej tabeli 7. W tym miejscu można postawić Doktorantce pytanie czy wiek ma wpływ na istnienie czy obecność niektórych zmian czy parametrów w obrębie tego narządu. Do analizy użyto rozpoznanie histopatologiczne choroby podstawowej, a stopień zaawansowania neoplazji trzustki określono używając typowego barwienia H+E (hematoksylina z eozyną). Badania immunohistochemiczne wykonano z użyciem przeciwciał dla poszczególnych 6 białek: Ki67, PCNA, CyklinaD1, p16, p21 i p51. Doktorantka w sposób szczegółowy opisała przygotowanie preparatów oraz barwienia i schemat postępowania w barwieniach immunohistochemicznych. W przeprowadzonych badaniach użyła kontroli negatywnej do wykluczenia niespecyficznego wiązania w badaniach immunohistochemicznych i kontroli pozytywnej do potwierdzenia prawidłowej reakcji ekspresji poszczególnych białek. Oceny akumulacji jądrowej białek dokonała w sposób procentowy. Tak szczegółowe potraktowanie metodologii jest doskonałym materiałem dydaktycznych dla innych badaczy.

Mgr Justyna Zińczuk swoje wyniki poddała analizie statystycznej nieparametrycznego testu korelacji rang Spearmana, a korelacje pomiędzy ekspresją białek we wszystkich stopniach zaawansowania śródnabłonkowej neoplazji trzustki z użyciem testu U Manna-Whitneya z poziomem istotności $p < 0,05$. Wyniki swoich badań Doktorantka zamieściła w 15 tabelach, 16 rycinach i zobrazowała na niezwykle czytelnych i przejrzystych 24 fotografiach obrazów histopatologicznych z zastosowaniem badań immunohistochemicznych. Prezentują one obecność lub brak jądrowej ekspresji poszczególnych białek w 100 lub 200 krotnym powiększeniu. Zobrazowane w ten sposób wyniki odpowiadają na postawione w sformułowanym celu pytania. Mgr Justyna Zińczuk wykazała w swoich badaniach, że najczęściej bo w około 55% w obrębie trzustki występują zmiany małego i średniego stopnia zaawansowania śródnabłonkowej neoplazji trzustki. Obecność jej ma związek ze stopniem zaawansowania, wiekiem i płcią chorych. Największe wartości ekspresji odnotowano dla białka PCNA zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. Średnia ekspresja poszczególnych białek uwzględniając wiek jako granicę 60 lat była istotna statystycznie dla 4: Cykliny D1, Ki67, PCNA i p21, a w przypadku płci tylko dla 2: Ki67 i PCNA. Istotny statystycznie związek pomiędzy lokalizacją w trzustce, a ekspresją białek dotyczył p53 w obrębie trzonu tego gruczołu. Najwyższą średnią ekspresję Doktorantka wykazała dla białek PCNA i najniższą p16 w raku przewodowym trzustki - co jest niezwykle istotne w różnicowaniu zmian złośliwych i łagodnych. Ekspresja prezentowanych wszystkich białek badanych przez Doktorantkę była odzwierciedleniem zaawansowania procesu śródnabłonkowej neoplazji trzustki, a wykazane zależności pomiędzy białkami są wprost proporcjonalne co Pani Mgr np. w przypadku Cykliny D1 zinterpretowała jako pozytywną ekspresję na pozostałe badane białka. Odwrotnie proporcjonalne zależności wykazała w stosunku do ekspresji białka p16, a więc jej spadek będzie odpowiadał wzrostowi ekspresji pozostałych białek. Uzyskane wyniki swoich niezwykle trudnych i obszernych badań Doktorantka skrupulatnie przedyskutowała w prawie 10 stronicowym omówieniu w kontekście najnowszej światowej literatury. Piśmiennictwo dotyczące tego tematu na podstawie którego to mgr Zińczuk mogła w sposób dojrzały odpowiedzieć na postawione cele to 111 pozycji w tym tylko 6 z lat 90 tych, pozostałe to literatura od 2000 roku. Doktorantka uwzględniła w swojej pracy także i polskich badaczy, co jest niezwykle cenne. W swojej dyskusji podkreśla Ona, że większość chorych trafia do chirurgów już z zaawansowanym procesem nowotworowym, a średnia przeżycia po resekcji chirurgicznej to 20 miesięcy, a więc niestety niecałe 2 lata. Zabieg operacyjny radykalny w przypadku szczególnie zmiany nowotworowej zlokalizowanej w obrębie głowy trzustki jest zabiegiem bardzo obciążającym chorego zarówno pod względem powikłań, jak i też obarczony dość znacznym odsetkiem zejść śmiertelnych. Jest to niezwykle istotny element w naszej codziennej pracy chirurgicznej.

A więc podjęta tematyka recenzowanej rozprawy doktorskiej jest istotna nie tylko z naukowego punktu widzenia, ale i potrzeb diagnostyczno-terapeutycznych w schorzeniach tego gruczołu mimo postępu w medycynie. W swoich rozważaniach w dyskusji mgr Justyna Zińczuk stara się w oparciu o najnowszą literaturę i wyniki badań własnych wykazać możliwość użycia ekspresji wybranych białek w diagnostyce różnicowej zmian złośliwych gruczołu trzustkowego preparatów histopatologicznych poddanych badaniom immunohistochemicznym, a także wpływ tych białek na zaburzenia regulacji cyklu komórkowego co sprzyja nowotworzeniu. Swoją pracę badawczą zamyka podsumowaniem i 7 trafnymi wnioskami będącymi odpowiedzią na postawione cele. Wnioski 3 i 4, a także 6 i 7 mogłyby być połączone. Dla jeszcze większej przejrzystości niezwykle cenne w dokumentacji rozprawy doktorskiej są fotografie preparatów histopatologicznych z immunohistochemią i powinny one być wydzielone i oznakowane jako Foto, a nie ryciny. Pomimo tych uwag praca doktorska jest niezwykle starannie przygotowana edytorsko. W pracy występują pojedyncze uchybienia w używanym słownictwie, czy też stylistyczne, a także drobne powtórzenia, czy błędy literowe. W pozycji 59 piśmiennictwa brak jest roku. Poczynione przez mnie drobne uwagi do rozprawy doktorskiej Mgr Justyny Zińczuk w żaden sposób nie umniejszają jej wartości merytorycznej, a wynikają z obowiązku recenzenta. Wykonane badania, a także przeprowadzona analiza wyników i omówienie ich w świetle najnowszej światowej literatury świadczy o doskonałym przygotowaniu Doktorantki jako dojrzałego badacza wykazującego pokorę wobec otrzymanych wyników i wyciągniętych wniosków.

Praca wykonana przez Doktorantkę pod nadzorem merytorycznym znanego i doświadczonego specjalisty patomorfologii w środowisku ogólnopolskim i nie tylko Prof. Andrzeja Kemony może stanowić podstawę i zainicjować badania wielośrodkowe dotyczące problemu nowotworzenia w zmianach łagodnych trzustki ze szczególnym zwróceniem uwagi na możliwość wczesnej diagnostyki raka tego gruczołu. Zapewne tak opracowany interesujący materiał w wiodącym Zakładzie Patomorfologii Ogólnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku będzie udostępniony szerokiemu gronu, a więc znajdzie swoje odbicie w literaturze w postaci publikacji. Podsumowując ocenianą rozprawę doktorską należy podkreślić, iż jest ona właściwie zaplanowaną i wykonaną pracą badawczą. Uzyskane wyniki mają znaczenie nie tylko poznawcze, ale szczególnie przyszłościowo mają aspekt praktyczny w diagnostyce różnicowej. Doktorantka wykazała się nie tylko gruntowną znajomością tematu, ale także i umiejętnościami w samodzielnym rozwiązywaniu trudnego problemu badawczego. Recenzując tę rozprawę doktorską uważam, że może być ona przyczynkiem do zaprojektowania kolejnego zadania badawczego przez Mgr Justynę Zińczuk w tym temacie, a mianowicie biologii raka trzustki przy współudziale promotora pomocniczego Dr n. med. Anny Pryczynicz.

Uwzględniając każdy etap zrealizowanej pracy badawczej, jej staranne opracowanie i przejrzyste zaprezentowanie wyników, jak i też dojrzałe ich przedyskutowanie wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu o wyróżnienie recenzowanej pracy doktorskiej. Prezentowaną rozprawę p.t. **"Ocena ekspresji białek regulatorowych cyklu komórkowego w zmianach przedrakowych zewnątrzwydzielniczej części trzustki"** oceniam bardzo dobrze i mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie **mgr Justyny Zińczuk** 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. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).


KIEROWNIK
KATEDRY CHIRURGII
dr hab. n. med. Jadwiga Snarska, prof. UWM

