

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. med. Konstantina Maksina pt. „Zastosowanie markerów uszkodzenia DNA w ocenie podścieliska raka brodawkowego tarczycy”.

Wraz z wiekiem wzrasta prawdopodobieństwo zachorowania na nowotwór. Dzisiaj już chyba nikt nie poddaje dyskusji tego faktu. Za wyjątkiem nowotworów dziedzicznych uwarunkowanych genetycznie, które mogą występować już u dzieci, niemal wszystkie pozostałe nowotwory zwiększają częstość występowania wraz ze starzeniem się człowieka. Dzięki zdobyciom cywilizacji, żyjemy coraz dłużej ale również coraz częściej chorujemy na raka. W wielu przypadkach nowotworów występujących w starszym wieku możemy znaleźć tło genetyczne, a wiek jest tylko jednym z czynników uspasabiających do ich występowania. Najczęściej badając etiopatogenezę nowotworów koncentrujemy się na samej tkance nowotworowej nie zwracając uwagi na podścielisko nowotworu. A to przecież bardzo często w mikrośrodku komórek guza dochodzi do procesów, które powodują inwazję nowotworu uruchamiając na przykład proces angiogenezy i w konsekwencji proces przerzutownia. Praca doktorska lek. med. Konstantina Maksina wpisuje się znakomicie w nurt badań mikrośrodku raka, które przecież tak jak cały organizm podlega procesom starzenia. Doktorant jasno formułuje cele pracy. Przede wszystkim chce sprawdzić metodę oceny uszkodzeń DNA badając korelację ekspresji dwóch stosowanych w tym celu markerów γ H2A.X i 53BP1. Głównym celem pracy jest jednak porównanie ekspresji markerów uszkodzenia DNA, wymienionych powyżej, w komórkach zrębu tarczycy poza nowotworem i w komórkach podścieliska raka brodawkowego tarczycy. W swojej pracy próbuje ustalić czy istnieją różnicę w nasileniu ekspresji tych markerów w zależności od wybranych cech morfologicznych (średnicy guza, liczby ognisk

nowotworowych, naciekania torebki tarczycy, zajęcia węzłów chłonnych oraz aktywności proliferacyjnej badanej indeksem Ki-67. Poziom ekspresji markerów uszkodzenia DNA próbuje również skorelować z danymi klinicznymi analizowanej grupy chorych tzn. wiekiem, płcią, rodzajem zabiegu i przebiegiem klinicznym. Znakomitym wstępem do nakreślenia celów pracy jest rozdział „Starzenie a choroba nowotworowa”. Doktorant niezwykle rzetelnie przedstawi współczesne poglądy na związek starzenia się organizmu człowieka z pojawieniem się nowotworu. Analizuje rolę komórki w procesie starzenia, przedstawia mechanizmy molekularne tego procesu, pisząc o przemianie nabłonkowo-mezenchymalnej dostrzega kluczową rolę fibroblastów w kancerogenezie. Jest to znakomity rozdział pracy doktorskiej, który mógłby z powodzeniem być publikowany jako praca pogładowa.

Ale są również i błędy. Nie widzę potrzeby szerokiego opisu podtypów raka brodawkowatego i to w rozdziale „Materiał i metody”. Lek. med. Konstantin Maksin nadaje kolejnym rozdziałom tytuły kolejnych podtypów raka brodawkowatego, gdy w pracy praktycznie zajmuje się jedynie klasyczną postacią raka brodawkowatego. W tym miejscu, muszę również zauważyć pewne niedociągnięcia edytorskie. Myślę, że nie jest dobrym pomysłem rezygnacja z numerowania rozdziałów i podrozdziałów. Szczególnie ma to znaczenie, gdy czytający chciałby ponownie przejrzeć jakiś interesujący fragment ze wstępu. Wtedy zdecydowanie łatwiej poruszać się po tekście w oparciu o numerację rozdziałów. Z drugiej strony doktorant bardzo rozbudował w pracy system skrótów. Oprócz rzeczywiście potrzebnych znajdują się tam również skróty bardzo rzadko używane w pracy jak i takie, które zdaniem recenzenta są nie do przyjęcia jak np. „meta po czasie”, który ma oznaczać „obecność przerzutów raka brodawkowatego tarczycy w trakcie obserwacji pooperacyjnej”. Zamieszczenie tak dużej liczby skrótów, tym bardziej dziwi, że w wielu przypadkach, te same skróty są ponownie, wielokrotnie objaśniane jak np. AGT Adenoma glandulae thyroideae str.57, 58, 59, 60.

W rozdziale materiał i metody doktorant precyzuje cechy, które będzie brał pod uwagę analizując pod względem klinicznym grupę chorych z rakiem tarczycy, a potem wymienia cechy histologiczne uwzględnione w analizie. Na podkreślenie zasługuje dobór metod statystycznych, uwiarygadniający otrzymane wyniki.

Na kolejnych 37 stronach pracy doktorskiej znalazły się wyniki prowadzonych badań. Ilustruje je trafnie dobranych 13 rycin i 25 przejrzystych tabel przez co duża liczba otrzymanych danych jest w pełni zrozumiała dla czytelnika. Jednak ze względu na dużą liczbę analizowanych danych, moim zdaniem brakuje, krótkiego podsumowania otrzymanych wyników, szczególnie w kontekście znamienności statystycznej występujących korelacji.

Doktorant bardzo szeroko omawia otrzymane przez siebie wyniki. Komentuje je w formie dyskusji. Szczególną uwagę, poświęca problemowi grupy kontrolnej. Przeczuwa, że jednym z głównych zarzutów recenzentów będzie brak przeprowadzenia badań kontrolnych na materiale nienowotworowym, czy chociażby na tkankach nowotworów łagodnych np. gruczolaków pęcherzykowych.

W tego rodzaju pracach jak recenzowana, wydaje się, że kluczowym argumentem określającym siłę czynnika rokowniczego (markera) określanego w guzie, jest porównanie jego ekspresji w tkankach osób bez zmiany nowotworowej. Argumenty doktoranta o braku „zdrowej” niezmiętej tarczycy i problemach z uzyskaniem takiej tkanki do badań kontrolnych nie przekonują. Drugim słabym punktem pracy jest liczebność grupy. Liczba 50 chorych o różnym zaawansowaniu klinicznym w tym tylko 5 mężczyzn, jest najsłabszym punktem tej pracy. Muszę przyznać, że autor bardzo krytycznie podchodzi do tego zagadnienia i naprawdę trudno się z nim nie zgodzić gdy próbuje wytłumaczyć brak związku między liczbą uszkodzonych komórek i wiekiem pacjentów. Ocena ekspresji w 4 kategoriach jej nasilenia, w tak małej ocenianej grupie, właściwie uniemożliwia ustalenie statystycznych zależności.

A może rzeczywiście brak jest istotnego związku między uszkodzeniem komórek i wiekiem, a może użyto złego markera. Ze wszystkimi z tych argumentów doktoranta można się zgodzić.

Pracę lek. med. Konstantina Maksina oparł na 174 pozycjach piśmiennictwa, współczesnego i dobrze dobranego. Z obowiązku recenzenta chciałem zwrócić uwagę na brak źródła pozycji 145 „M.Biczysko, Charakterystyka kliniczno-morfologiczna jedno- i wieloogniskowych raków brodawkowatych tarczycy”. Błąd pewnie edytorski jest tym bardziej zauważalny, że jest to jedyna cytowana praca w języku polskim.

Moim zdaniem, prac w języku polskim mogłoby być więcej. Szczególnie dziwi w piśmiennictwie brak Rekomendacji Polskich Diagnostyki i Leczenia Raka Tarczycy z 2015 lub wcześniejszych z 2010 roku. Te artykuły, mogłoby być „kluczem” do dyskusji dotyczącej strony klinicznej recenzowanego doktoratu. Analizując przebieg kliniczny chorych uwzględnionych w pracy doktorant nie pisze ani słowa na temat leczenia radiojodem (uzupełniającym, w tym ablacyjnym, czy też radykalnym). Lek. med. Konstatnin Maksin używa zamiennie pojęcia radioterapii np. ablacyjnej, co jest dość dużym błędem ale ten sposób leczenia pomija całkowicie w swoim opracowaniu. Doktorant mógłby również polemizować z rozległością zastosowanego leczenia operacyjnego i trybu przeprowadzania zabiegów operacyjnych (rekomendacja nr 6.2.3 śródoperacyjna obustronna biopsja chirurgiczna węzłów bocznych szyi jest wskazana dla wykluczenia przerzutów do węzłów bocznych szyjnych. Jeżeli jest ujemna, pozwala na rozpoznanie stadium N0 ; jeśli jest dodatnia, stanowi wskazanie do zmodyfikowanej limfadenektomii bocznej po tej stronie).

Zdaje sobie sprawę, że rodzaj i wybór przeprowadzanego zabiegu operacyjnego nie wiąże się bezpośrednio z tematem recenzowanej pracy. Niemniej autor dość dużo miejsca poświęca prowadzonej terapii szczególnie w dyskusji. Wielokrotnie zwraca uwagę na długi okres obserwacji chorych i w tym

kontekście informacja o prowadzonym leczeniu radiojodem wydaje się być fundamentalna.

Dyskusję kończy 6 wniosków, odpowiadających na sformułowane cele pracy. Moim zdaniem choć są one logiczne to jednak nie do końca odpowiadają one otrzymanym wynikom. Można się całkowicie zgodzić z wnioskiem, że zbliżona charakterystyka ekspresji obu markerów, wskazuje na możliwość oceny immunohistochemicznej uszkodzonego DNA już przy użyciu jednego z nich. Trudno również podważyć wniosek, że proces uszkodzenia DNA w komórkach podścieliska zachodzi równomiernie w obrębie raka brodawkowego tarczycy oraz tarczycy niezmięnionej nowotworowo.

Natomiast wniosek 5 nie ma swojego uzasadnienia w otrzymanych wynikach. Być może rzeczywiście zastosowanie markerów uszkodzenia DNA w komórkach raka brodawkowego oraz tarczycy niezmięnionej może być przydatne w rutynowej ocenie rokowania raka brodawkowego ale autor tego nie dowodzi dysponując zbyt małym materiałem i niejednoznacznym (półilościowym) systemem oceny ekspresji badanych markerów.

Natomiast wniosek pierwszy kreślący związek uszkodzenia komórek podścieliska raka brodawkowego i tarczycy niezmięnionej z wymiarami guza i wielogniskowością, zresztą jak wnioski pozostałe, wymaga celem potwierdzenia dalszych badań, w tym z użyciem grupy kontrolnej.

Pracę uzupełniają 34 fotografie. Prawdopodobnie dobrze dobrane. Niestety zastosowane powiększenie oryginalne 100x nie pozwala przeanalizować użytego w pracy systemu oceny ekspresji markerów (przynajmniej na fotografiach). Dodatkowo słaba jakość papieru użyta do prezentacji zdjęć niweczy trud doktoranta włożony w dobór obrazów mikroskopowych do fotografii.

Moje liczne krytyczne uwagi przewijające się przez całość recenzji absolutnie nie wpływają na całość oceny pracy i uważam, że praca stanowi oryginalne, rozwiązanie problemu naukowego i oceniam ją pozytywnie.

Lek. med. Konstantin Maksin wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie biologii molekularnej, chirurgii i patomorfologii oraz posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Upoważnia to mnie do zwrócenia się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lek. med. Konstantina Maksina do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

27.02.2017

KIEROWNIK
Zakładu Patologii Nowotworów
Lecznicy i Rehabilitacji med. Dariusz Lange