



KATEDRA I KLINIKA GASTROENTEROLOGII, DIETETYKI  
I CHORÓB WEWNĘTRZNYCH

ul. Przybyszewskiego 49,  
60-355 Poznań

tel./fax. 061 869 13 14  
e-mail: gastroenterologia@spsk2.pl

Prof. dr hab. med. Piotr Eder

Katedra i Klinika Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Szpital Kliniczny im. H. Święcickiego w Poznaniu

[piotreder@ump.edu.pl](mailto:piotreder@ump.edu.pl)

**RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ  
MAGISTRA ANALITYKI MEDYCZNEJ DAMIANA WODZIŃSKIEGO  
„Ocena ekspresji wybranych czynników szlaku TGF- $\beta$  w raku jelita grubego”**

**PROMOTOR: PROF. DR HAB. N. FARM. EWA BALCERCZAK**

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wydział Farmaceutyczny

Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki

Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej

Międzywydziałowa Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej

**OCENA FORMALNA PRACY**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Damiana Wodzińskiego ma postać monografii. Liczy 203 strony i ma ona układ typowy dla tego typu prac. Autor dodatkowo podzielił rozprawę na „Część teoretyczną”, która obejmuje *de facto* wstęp i stanowi wprowadzenie do zagadnień badawczych, będących przedmiotem dociekań naukowych Doktoranta. Natomiast w „Części praktycznej” zdefiniowano cele pracy, szczegółowo przedstawiono zagadnienia metodyczne, aspekty analizy statystycznej, przedstawiono wyniki (które dodatkowo podsumowano w osobnym podrozdziale), zaprezentowano dyskusję, sformułowano wnioski oraz zamieszczono streszczenie w języku

polskim i angielskim. Następnie w układzie alfabetycznym ujęto piśmiennictwo. Całość wieńczy zestawienie publikacji i doniesień zjazdowych Doktoranta oraz oświadczenie, w którym Pan mgr Damian Wodziński deklaruje, że jest wyłącznym twórcą rozprawy doktorskiej, oraz że zgadza się na nieodpłatne udostępnienie swojej pracy Bibliotece Głównej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Język, jakim posługuje się Doktorant, jest prawidłowy. Co warte podkreślenia, praca niemalże nie zawiera błędów interpunkcyjnych, ani błędów literowych.

Z obowiązku recenzenta chciałbym się jednak podzielić także kilkoma wątpliwościami, niemającymi jednak wpływu na ostateczną wysoką ocenę aspektów formalnych rozprawy. Przede wszystkim brakuje w mojej ocenie w treści pracy kserokopii zgód Komisji Bioetycznej, zwłaszcza że, jak wynika z deklaracji na stronie 73 rozprawy, tych dokumentów było kilka. Inna uwaga dotyczy podpisów do rycin. Zwyczajowo przyjmuje się, że opisy do nich umieszcza się pod rycinami, natomiast opisy do tabel – nad nimi. W przedstawionej mi do recenzji pracy podpisy zarówno do rycin, jak i tabel umieszczono nad nimi. Dodatkowo brakuje mi w układzie pracy osobnego podrozdziału, w którym znalazłby się spis tabel i rycin. W związku z faktem, że Autor posługuje się w rozprawie licznymi graficznymi formami prezentowania treści i wyników, spis w którym podsumowano by listę wszystkich tabel i rycin wraz ze wskazaniem ich umiejscowienia w pracy ułatwiłby czytelnikowi jej analizę.

## OCENA MERYTORYCZNA PRACY

Rak jelita grubego należy do najczęstszych nowotworów złośliwych człowieka. Jest też jedną z częstszych onkologicznych przyczyn zgonów na świecie. W ostatnich latach dokonał się istotny postęp wiedzy na temat patogenezy tego nowotworu. Postęp ten jest bezpośrednią konsekwencją dynamicznego rozwoju nauk podstawowych, takich jak biologia molekularna. Natomiast coraz powszechniejsze wdrażanie badań przesiewowych, ukierunkowanych na wczesne wykrywanie raka jelita grubego lub stanów przednowotworowych, a także dostępność nowych opcji terapeutycznych, dały realną szansę na poprawę rokowania w tej chorobie. Pomimo tych ewidentnych sukcesów współczesnej nauki, rak jelita grubego nadal stanowi jedno z najpoważniejszych wyzwań dla systemów ochrony zdrowia z medycznego, a także społecznego punktu widzenia. Dlatego też podjęty przez Doktoranta temat prac badawczych jest ważny i ambitny.

W „Części teoretycznej” Autor przedstawia dane epidemiologiczne, omawia szczegółowo etiologię, objawy kliniczne, aspekty diagnostyczne i terapeutyczne w

odniesieniu do raka jelita grubego. Omawia także w sposób ciekawy i przejrzysty aspekty molekularne onkogenezy. Autor wykazuje się bardzo dobrą znajomością tematyki, będącej przedmiotem Jego dociekań naukowych. Dzięki tak szczegółowemu opisowi, ta część pracy doktorskiej mogłaby, po dokonaniu niewielkich korekt, stanowić niezależną publikację o charakterze skryptu dla studentów medycyny. Fakt ten można uznać jednocześnie za zaletę rozprawy doktorskiej Pana mgr Wodzińskiego, jak i jej wadę. Wydaje mi się bowiem, że wstęp do pracy powinien być krótszy i odnosić się ściśle do problematyki naukowej dysertacji. Wydaje mi się, że drobiazgowo przedstawianie np. zasad nadzoru po polipektomii endoskopowej czy wskazań do kolonoskopii, nie było potrzebne. Zwłaszcza, że zaprezentowano nieaktualne już wytyczne, dotyczące wykonywania kontrolnych kolonoskopii po zabiegu polipektomii, a wskazania do kolonoskopii są o wiele szersze, niż te przedstawione przez Doktoranta. Pewne wątpliwości recenzenta, będącego praktykującym endoskopistą przewodu pokarmowego, budzi nazywanie badań endoskopowych mianem obrazowych, kiedy *de facto* określenie to w naukach klinicznych raczej zarezerwowane jest dla badań radiologicznych.

Następnie Autor precyzuje **cele pracy**. W kolejnej części rozprawy doktorskiej omawia szczegółowo **aspekty metodologiczne**. W sposób przejrzysty, korzystając także z szeregu rycin i schematów, prezentuje poszczególne etapy doświadczeń badawczych, do przeprowadzenia których posługuje się nowoczesnymi technikami molekularnymi. Jedyne pytanie, jakie rodzi się po przeczytaniu rozdziałów 7 - 9, dotyczy kryteriów, jakie zdecydowały o zbadaniu roli takich, a nie innych czynników szklaku TGF-beta? Czy za wyborem genów *ACVR2A*, *TGFB1* oraz *RUNX3* stały uprzednie doświadczenia badawcze Doktoranta, analiza danych literaturowych, czy inne czynniki?

Na stronach 104 – 168 Doktorant zamieszcza uzyskane **wyniki**. Prezentuje je zarówno w formie tekstowej, jak i w formie poprawnie wykonanych tabel i rycin. Dzięki temu, pomimo zawartego w tej części dysertacji ogromu danych, czytelnik z łatwością może śledzić rezultaty kolejnych doświadczeń i analiz przeprowadzonych przez Doktoranta. Zapoznanie się z wynikami prac byłoby jeszcze łatwiejsze, gdyby Autor na każdej z rycin umieszczał wartość współczynnika „p”, zamiast umieszczania tej wartości jedynie w tekście pracy. Co więcej, Doktorant zazwyczaj nie umieszcza w tekście odnośników do tabel czy rycin. Oczywiście czujny czytelnik może domyślić się, który fragment pracy odnosi się do danej ryciny czy tabeli, ale stanowi to drobne utrudnienie w płynnej lekturze dysertacji.

Bardzo dobrym pomysłem jest zwięźczenie rozdziału podsumowaniem wyników, w którym Autor w sposób syntetyczny wskazuje na najważniejsze rezultaty swoich analiz

badawczych. Doktorant wykazał zależność względnego poziomu mRNA genu *ACVR2A* od umiejscowienia zmiany nowotworowej. W odniesieniu do poziomu ekspresji genu *TGFB1*, wykazano zależność od stopnia zaawansowania klinicznego choroby wg klasyfikacji Astlera-Collera oraz klasyfikacji TNM. Ponadto wyższy względny poziom ekspresji tego genu wiązał się z brakiem inwazji naczyniowej przez komórki rakowe oraz obecnością limfocytów w tkance nowotworowej. Nie potwierdzono zależności między obecnością metylacji wysp CpG regionu promotorowego genu *TGFB1* w obszarze od -235 do +22 nukleotydu od miejsca rozpoczęcia transkrypcji z cechami demograficzno-patologicznymi w grupie badanej. Nie potwierdzono również wpływu metylacji na ekspresję genu *TGFB1*.

**Dyskusja** napisana jest bardzo dobrze. Autor prawidłowo odnosi wyniki swoich badań do danych literaturowych. Spośród wielu bardzo ważnych wątków, poruszanych w tej części dysertacji, moją uwagę zwrócił zwłaszcza aspekt powiązania czynników szlaku TGF-beta z odpowiedzią immunologiczną w przebiegu raka jelita grubego. Jak wspomniano powyżej, Doktorant wykazał, że wysoki poziom ekspresji genu *TGFB1* korelował z obecnością nacieku limfocytarnego w tkance nowotworowej. Pojawia się pytanie, jakie to może mieć znaczenie dla progresji choroby nowotworowej? Z jednej strony Autor przytacza w dyskusji dane literaturowe, świadczące o tym że wysoka ekspresja tego genu tłumia odpowiedź limfocytów Th i promuje funkcję limfocytów Treg, co wywiera efekt immunosupresyjny i sprzyja nowotworzeniu. Z drugiej jednak strony we wnioskach Autor sugeruje, że zwiększona infiltracja limfocytów w tkance nowotworowej, która w badaniach Pana mgr Wodzińskiego korelowała z wysoką ekspresją genu *TGFB1*, jest korzystnym czynnikiem rokowniczym. Ta sprzeczność rozumowania jest jedynie pozorna, ponieważ rola zarówno elementów szlaku TGF-beta, jak i limfocytów w onkogenezie jest złożona i zależy od bardzo wielu dodatkowych czynników. W odniesieniu do roli limfocytów w tkance nowotworowej, jak i okołonowotworowej, istnieje szereg dowodów, że nasilenie nacieku zapalnego zwłaszcza w otoczeniu guza jest skorelowane z dłuższym czasem przeżycia wolnym od wznowy raka jelita grubego po leczeniu chirurgicznym. Zjawisko to jest najprawdopodobniej zależne od funkcji limfocytów Th oraz limfocytów, wykazujących właściwości cytotoksyczne. Jak słusznie zauważa Autor, weryfikacja patofizjologicznej zależności między ekspresją genu *TGFB1* a rzeczywistym charakterem nacieku limfocytarnego w grupie badanej byłaby możliwa, gdyby przeprowadzić analizę fenotypu limfocytów w badanych tkankach, co nie miało miejsca. Byłoby to niezwykle interesujące i być może miałyby potencjalne implikacje praktyczne. Badania ostatnich lat pokazują bowiem, że to w jaki sposób układ immunologiczny odpowiada na pojawienie się komórek

nowotworowych w organizmie człowieka, determinuje w dużej mierze przebieg samej choroby. Wiedzę tą wykorzystuje się w codziennej praktyce, czego świadectwem jest coraz powszechniejsze wykorzystanie immunoterapii w leczeniu schorzeń onkologicznych. Przykładem tego jest wprowadzenie do algorytmów terapeutycznych wielu chorób rozrostowych leków, będących inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych, takich jak pembrolizumab czy ipilimumab. Te przeciwciała monoklonalne, poprzez stymulację funkcji efektorowych limfocytów, promują niszczenie przez układ immunologiczny komórek nowotworowych. Stąd powstaje hipoteza, że regulując proces transkrypcji genu *TGFBI*, możemy wtórnie wpływać na funkcję komórek immunokompetentnych w tkance nowotworowej, co mogłoby wywierać efekt terapeutyczny.

Całość rozważań wieńczy 11 **wniosek**ów. Każdy z nich jest wprost odniesiony do konkretnego wyniku, uzyskanego w toku prac Doktoranta. W pewnym uproszczeniu można skonstatować, że badania Autora wskazują na ważną rolę elementów szlaku TGFB1 zwłaszcza w początkowych fazach choroby. Wydaje się także, że elementy te wywierają raczej wpływ ochronny i hamują postęp choroby nowotworowej. Z drugiej strony Autor w wielu miejscach przytacza dane literaturowe, świadczące raczej o roli szlaku TGFB1 w progresji nowotworu. Jestem ciekaw opinii Doktoranta, czy istnieje Jego zdaniem taka możliwość, że w obliczu coraz dalej idącej indywidualizacji terapii chorób onkologicznych (i nie tylko onkologicznych), istnieje możliwość że w przyszłości stosowane będą interwencje terapeutyczne u jednych chorych nakierowane na stymulację danej ścieżki sygnałowej, a u innych – na hamowanie tej samej ścieżki sygnałowej? To natomiast w jaki sposób będziemy wpływać na te same zjawiska (czyli hamować lub pobudzać), zależeć będzie np. od stopnia zaawansowania choroby czy podtypu nowotworu.

W podsumowaniu chciałbym podkreślić, że wyniki pracy doktorskiej mgr Damiana Wodzińskiego istotnie poszerzają wiedzę na temat patogenezy raka jelita grubego. Nieliczne uwagi oraz wątpliwości recenzenta, przedstawione powyżej, nie wpływają na pozytywną ocenę przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej. Uważam, że praca doktorska mgr Damiana Wodzińskiego 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.) stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych. W związku z powyższym mam zaszczyt przedstawić Radzie Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie mgr Damiana Wodzińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoką jakość rozprawy, a także wkład pracy, jaki z pewnością był udziałem Doktoranta, wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Z poważaniem

**prof. dr hab. n. med. Piotr Eder**  
specjalista chorób wewnętrznych  
gastroenterolog  
2316447



18.12.2020