



Poznań, 30-07-2017

**Dr hab. n. med. Łukasz Krokowicz**  
**Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej,**  
**Endokrynologicznej i Onkologii Gastroenterologicznej**  
**Uniwersytetu Medycznego im K. Marcinkowskiego w Poznaniu**

**Ocena rozprawy doktorskiej lekarza medycyny Piotra Zelgi pt. „Badanie polimorfizmów genów naprawy DNA systemu naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych u pacjentów z sporadycznym rakiem jelita grubego”**

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lekarza medycyny Piotra Zelgi pt. „Badanie polimorfizmów genów naprawy DNA systemu naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych u pacjentów z sporadycznym rakiem jelita grubego” dotyczy niezwykle istotnego problemu jakim jest rak jelita grubego. To najczęstszy nowotwór złośliwy przewodu pokarmowego, zgodnie z przewidywaniami w 2035 roku zachoruje na niego 1,3 miliona mężczyzn i 1,08 miliona kobiet. W krajach Europy zachodniej i USA obserwuje się spadek zachorowalności i śmiertelności związanej z rakiem jelita grubego ale choroba częściej pojawia się u dorosłych poniżej 50 roku życia i częściej we wschodniej Europie. Zgodnie z Krajowym Rejestrem Nowotworów nowotwory złośliwe jelita grubego powodują 12% zgonów nowotworowych rocznie. Umieralność z powodu nowotworów jelita grubego w Polsce jest wśród mężczyzn wyższa niż przeciętna dla krajów Unii Europejskiej - w 2010 roku współczynnik umieralności był o około 50% wyższy niż średni współczynnik dla krajów Unii Europejskiej. Wśród kobiet umieralność na raka jelita grubego jest nieznacznie wyższa niż średnia dla Europy. Wysoka umieralność i zachorowalność na raka jelita grubego powoduje, że duże znaczenie mają badania naukowe mające na celu ocenę związku pomiędzy

mutacjami genetycznymi, a rozwojem raka jelita grubego w populacji. Wydaje się, że dzięki temu w przyszłości możliwe będzie ocena indywidualnego ryzyka zachorowania na raka jelita grubego a także zmniejszenie tego ryzyka poprzez zmianę sposobu odżywiania czy stylu życia.

Aktualnie wyróżnia się trzy (różne) molekularne fenotypy raka jelita grubego, które odzwierciedlają różne formy niestabilności DNA, takie jak niestabilność chromosomalna, niestabilność mikrosatelitarna oraz fenotyp metylatora wysp.

Lekarz medycyny Piotr Zelga w swoich badaniach skupił się na niestabilności satelitarnej, która jest wynikiem niesprawnego działania systemu naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych.

Zaproponowany przez Doktoranta temat pracy uważam za bardzo dobrze dobrany. Możliwość wdrożenia programów prewencyjnych w raku jelita grubego może mieć bardzo duże znaczenie praktyczne i implikacje kliniczne. Uzasadnieniem wyboru tematu jest również fakt, iż lekarz medycyny Piotr Zelga pracuje w Ośrodku o olbrzymim doświadczeniu w diagnostyce i leczeniu raka jelita grubego, tj. Klinice Chirurgii Ogólnej i Kolorektalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, a sama praca powstała we współpracy z Zakładem Chemii i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Pod względem formalnym praca doktorska opiera się o dwie publikacje:

1. Polymorphism of Gly39Glu (c.116G>A) hMSH6 is associated with sporadic colorectal cancer development in polish population- the preliminary results.
2. The 116G > A MSH6 and IVS1-1121C > T PMS2 Genes Polymorphisms Modulate the Risk of the Sporadic Colorectal Cancer Development in Polish Population.

Prace zostały opublikowane w czasopismach posiadających Impact Factor, a Doktorant jest w obu pracach pierwszym Autorem. Jego wkład autorski w cykl publikacji nie budzi wątpliwości. Chciałbym również zwrócić uwagę na fakt dużego zaangażowania naukowego Doktoranta, które sięga czasów studiów na Wydziale Wojskowo-Lekarskim UM, podczas których brał on czynny udział w pracach kół naukowych czego efektem są liczne wyróżnione i nagrodzone wystąpienia na studenckich i lekarskich konferencjach naukowych.

Pomimo krótkiego stażu naukowego, Doktorant ma imponujący dorobek naukowy, na który składa się 8 prac oryginalnych z łącznym współczynnikiem Impact Factor wynoszącym 11,292 oraz 8 prezentacji ustnych i 2 prezentacje plakatowe na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych.

Warte odnotowania jest także to, że na wykonywanie badań objętych tematyką pracy doktorskiej lekarz medycyny Piotr Zelga otrzymał Stypendium Marszałka Województwa Łódzkiego dla Wybitnych Młodych Naukowców oraz Grant dla Młodych Naukowców UMED. Równie istotne jest także to, że wyniki badań objętych tematyką pracy doktorskiej zostały zaprezentowane podczas Konferencji Rak Jelita Grubego: Diagnostyka i Leczenie, Standardy-Teraźniejszość i Przyszłość oraz otrzymały Nagrodę Naukową Fundacji Onkologii Doświadczalnej i Klinicznej.

Jest to godne podkreślenia, świadczy to o tym, że badania były od samego początku dobrze zaplanowane i przemyślane, a na wszystkich etapach powstawania prac były bardzo dobrze odbierane przez liczne gremia naukowe.

Przedstawione w cyklu publikacje zostały poddane szczegółowej recenzji przez niezależnych ekspertów, co wynika z wymogów stawianych czasopismom recenzowanym. Aspekty związane z metodyką badań, poprawnością metod statystycznych, prezentacją wyników czy też ich dyskusją nie wymagają więc oceny krytycznej i należy przyjąć, iż ich poprawność jest dostatecznie zweryfikowana.

Całość cyklu tworzy bardzo spójną całość, obejmuje grupę 200 pacjentów z rozpoznaniem rakiem jelita grubego. Cele pracy zostały jasno określone a wyniki badań dały jasną odpowiedź na zadane wcześniej pytania.

Pierwsza praca określa związek polimorfizmu Gly39Glu (116G>A) genu MSH6 (rs1042821) z wystąpieniem sporadycznego raka jelita grubego w populacji polskiej. Wyniki badania potwierdzają związek polimorfizmu hMSH6Glu39Gly z ryzykiem wystąpienia raka jelita grubego w polskiej populacji. Dalsza analiza wyników wykazała także związek pomiędzy występowaniem wariantu A/C a wyższym stopniem zaawansowania raka jelita grubego. Autor zwraca także uwagę na nasilenie karcynogenezy poprzez zmiany struktury DNA wynikające z palenia papierosów, zachodnim rodzajem diety, spożywaniem alkoholu i otyłością. Jest to pierwsza tego typu praca określająca populację polską. Warto zwrócić uwagę, że jest to raport wstępny czyli lekarz medycyny Piotr Zelga ma zamiar kontynuować dalsze badania i ocenić wpływ stylu życia na dokonujące się mutacje w genomie pacjentów.

Druga praca to w pełni autorska analiza roli dwóch polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (116G > A MSH6 oraz IVS1-1121C > T PMS2) w genach odpowiedzialnych za system naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych. Jest to dotychczas największe badanie analizujące polimorfizmy genów systemu naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych w populacji polskiej. Wyniki dowodzą, że polimorfizmy badanych genów mogą wpływać na

stan niestabilności mikrosatelitarnej. Autor stwierdził, że heterozygotyczność dla 116 G>MSH6 była znacznie bardziej rozpowszechniona w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego powyżej 60 roku życia i wśród płci żeńskiej. Guzy nowotworowe częściej lokalizowały się po prawej stronie jelita grubego. Te cechy są typowe dla nowotworów prezentujących fenotyp wysokiej niestabilności mikrosatelitarnej. Pomimo wykluczenia z badania pacjentów spełniających amsterdamskie kryteria rozpoznania HNPCC, u niektórych pacjentów zaobserwowano cechy fenotypowe charakterystyczne dla zespołu Lyncha. Pozwala to wnioskować, że część sporadycznych raków jelita grubego wykazuje cechy charakterystyczne dla raków uwarunkowanych rodzinnie co może ułatwić „wyłapywanie” narażonych na występowanie takich nowotworów w badaniach przesiewowych.

Przedstawione powyżej prace prezentują bardzo wysoki poziom naukowy i kliniczny. Są one podsumowaniem prac dotyczących badania polimorfizmów genów naprawy DNA systemu naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych u pacjentów ze sporadycznym rakiem jelita grubego. Dzięki ocenianym pracom istnieje szansa żeby wprowadzić nowe metody badań przesiewowych w raku jelita grubego. Możliwe będzie także wyodrębnienie grupy pacjentów posiadających „ryzykowne” warianty polimorfizmu genowego i objęcie ich wcześniejszym i bardziej szczegółowym programem badań profilaktycznych.

Moją ciekawość jako recenzenta, budzi odsetek pacjentów z grupy kontrolnej u których stwierdzono niestabilność mikrosatelitarną (jeśli oczywiście została stwierdzona) i jakie były dalsze losy tych pacjentów, czy podlegają oni szczegółowej kontroli i czy może, u któregoś z nich rozpoznano raka jelita grubego.

Chętnie dowiedziałbym się o kosztach badań polimorfizmów (na jednego pacjenta) wykonywanych przez Doktoranta, co będzie to miało bezpośredni wpływ na możliwe włączenie badań polimorfizmów do badań przesiewowych w przyszłości.

Mam jednak świadomość, iż przedstawiona forma Doktoratu tzn. analiza cyklu publikacji, uniemożliwia często kompleksowe omówienie wszystkich aspektów badania ze względu na pewien oczywisty w publikowaniu wyników w recenzowanych czasopismach reżim objętości pracy i zakresu przedstawianych zagadnień.

Z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć o drobnym błędzie literowym w tytule pracy- wydaje mi się, że zgrabniejsze byłoby użycie przyimka „ze” zamiast „z” i wtedy tytuł brzmiałby następująco: „Badanie polimorfizmów genów naprawy DNA systemu naprawy błędnie sparowanych zasad azotowych u pacjentów ze sporadycznym rakiem jelita grubego”. Nie wpływa to jednak w żaden sposób na kompleksową ocenę pracy.

Podsumowując chciałbym pogratulować Doktorantowi osiągniętych wyników i formy ich przedstawienia. Analizowane zagadnienie jest bardzo istotne klinicznie w wybranej grupie pacjentów. Zostało ono kompleksowo opracowane naukowo i ma szansę być wprowadzone do badań przesiewowych prowadzonych w całym kraju. To najwyższa forma oceny przydatności przeprowadzonych badań – przełożenie ich na wymierną korzyść dla pacjentów. Prezentowane prace są pracami w pełni oryginalnymi. jednymi z pionierskich w skali światowej. Warto kontynuować prowadzone przez Doktoranta badania w celu poszerzenia badań przesiewowych w raku jelita grubego.

Wobec powyższego wnioskuję do wysokiej Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarza medycyny Piotra Zelgi do dalszych etapów pracy doktorskiej. Postuluję również o wyróżnienie ocenianej przez mnie pracy.

Z wyrazami szacunku,



Dr hab. n. med. Łukasz Krokowicz  
Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Endokrynologicznej i Onkologii Gastroenterologicznej  
Uniwersytetu Medycznego im K. Marcinkowskiego w Poznaniu