



Bydgoszcz, dn. 7.04.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Związek wybranych markerów przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej z parametrami kliniczno-morfologicznymi, klasyfikacją molekularną i rokowaniem u pacjentek z naciekającym rakiem piersi”

autorstwa lek. Bernadety Chajnowskiej

realizowana w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

promotor: dr hab. n. med. Marek Masiuk

promotor pomocniczy: dr n. med. Magdalena Lewandowska

Według Światowej Organizacji Zdrowia rak piersi stał się najczęstszym nowotworem na świecie od 2021 roku, stanowiąc 12% wszystkich nowych rocznych przypadków raka. Szacuje się, że w 2022 r. u kobiet w USA zostanie zdiagnozowanych 287 850 nowych przypadków inwazyjnego raka piersi oraz 51 400 nowych przypadków nieinwazyjnego (in situ) raka piersi, a jedna na osiem kobiet w USA (około 13%) zachoruje na inwazyjnego raka piersi w ciągu swojego życia. Od stycznia 2022 r. tylko w USA jest ponad 3,8 miliona kobiet z historią raka piersi. W Polsce rak piersi jest również najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet. Statystycznie wśród tysiąca przebadanych pań, choroba zostanie wykryta u pięciu, a śmiertelność w jej następstwie jest coraz większa. Według statystyk Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (OECD) w 2020 roku wskaźnik umieralności wynosił 41,8 na 100 tys. kobiet. Dla porównania w 2015 roku było to 31,1 a w 2000 roku – 30,2. Dla całej Unii Europejskiej wskaźnik umieralności z powodu raka piersi w 2020 roku wynosił około 34 na 100 tys. kobiet, bez uwzględnienia możliwego wpływu pandemii COVID-19.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska na stopień doktora nauk medycznych pt. „Związek wybranych markerów przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej z parametrami kliniczno-morfologicznymi, klasyfikacją molekularną i rokowaniem u pacjentek



z naciekającym rakiem piersi” porusza niezwykle ciekawe merytorycznie i potrzebne w dziedzinie nauk medycznych zagadnienia dotyczące przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej, a ściślej powiązanie jej markerów z parametrami kliniczno-morfologicznymi, klasyfikacją molekularną i rokowaniem u pacjentek z naciekającym rakiem piersi.

Rozprawa ma charakter eksperymentalny i obejmuje 76 stron maszynopisu, w tym 13 tabel podsumowujących wyniki oraz 11 rycin stanowiących graficzne przedstawienie uzyskanych wyników, a także tabelarycznie przedstawione dane źródłowe dla przeprowadzonych analiz, które ujęte zostały jako „Aneks” do rozprawy. Rozprawa autorstwa lek. Bernadety Chajnowskiej ma typowy i właściwy układ dla rozprawy na stopień doktora nauk medycznych. Podzielona jest na następujące rozdziały: „Wstęp”, „Cel pracy”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Podsumowanie Wyników”, „Dyskusja” i „Wnioski”. Rozprawę kończy „Streszczenie” w języku polskim i angielskim oraz „Piśmiennictwo”, a całość została poprzedzona „Wykazem skrótów”. Praca została napisana w sposób przejrzysty, zwięzły i zrozumiały. Język rozprawy jest poprawny i obejmuje właściwą i aktualnie używaną terminologię. Sposób edycji pracy jest prawidłowy do zakresu i przedmiotu rozprawy.

Wstęp do pracy jest oparty o poprawnie dobrane i aktualne piśmiennictwo z zakresu tematyki badawczej. Rozdział ten jest zrozumiały i daje dobre podstawy do lektury dalszych części rozprawy. Wskazuje na wiedzę Doktorantki w zakresie obranej tematyki badawczej i uwzględnia epidemiologię raka piersi, czynniki zwiększonego ryzyka, czynniki rokownicze, klasyfikację, typy molekularne raków piersi oraz zagadnienia związane z przemianą nabłonkowo-mezenchymalną (EMT). Te ostatnie stanowią podstawowe kompendium wiedzy na temat procesu będącego przedmiotem rozprawy i obejmują charakterystykę procesu EMT, opis markerów, a także rolę tego procesu w tworzeniu przerzutów.

Cel badawczy został przez Doktorantkę poprawnie sformułowany i obejmował ocenę ekspresji markerów przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej w komórkach raka sutka oraz ich korelację z (a) wiekiem chorych, (b) średnicą guza, (c) stanem węzłów chłonnych, (d) obecnością przerzutów odległych, (e) typem histologicznym raka, (f) stopniem histologicznej złośliwości raka, (g) obecnością angioinwazji, (h) typem molekularnym raka, (i) ekspresją PR, ER, HER2, Ki67, oraz (j) zastosowaną chemioterapią przedoperacyjną (CTH).



Rozprawa doktorska została dobrze zaplanowana, a dobrane przez Doktorantkę techniki badawcze, opisane w rozdziale „Materiał i metody”, pozwoliły na zrealizowanie wszystkich założonych celów badawczych, z wyjątkiem korelacji markerów EMT z obecnością przerzutów odległych, gdyż w analizowanych przypadkach nie stwierdzono ich obecności.

Badanie przeprowadzono na materiale tkankowym pochodzącym od 65 pacjentek, u których wykonano całkowitą mastektomię z powodu pierwotnego naciekającego raka sutka w latach 2013-2018 w Klinice Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 1 Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Rozpoznanie histopatologiczne zostało postawione w Zakładzie Patomorfologii powyższego szpitala. Grupę badaną scharakteryzowano według parametrów kliniczno-morfologicznych, które obejmowały: wiek w chwili rozpoznania, średnicę guza, obecność przerzutów w węzłach chłonnych pachowych, obecność przerzutów odległych, typ histologiczny raka, stopień histologicznej złośliwości, obecność angioinwazji, typ molekularny raka, ekspresję receptorów ER, PR, HER2, indeks proliferacyjny (Ki67) oraz zastosowanie chemioterapii przedoperacyjnej (CTH). Z materiału tkankowego zatopionego w bloczkach parafinowych sporządzone zostały macierze tkankowe obejmujące inwazyjny obwód guza. Na preparatach z macierzy tkankowych wykonane zostały reakcje immunohistochemiczne wobec E-kadheryny, N-kadheryny, wimentyny, Snail oraz Slug. Oceniono zarówno stopień ekspresji powyższych białek wyrażony w 4-stopniowej skali intensywności reakcji barwnej, jak i odsetek komórek wykazujących dodatnią reakcję immunohistochemiczną. Wyniki przedstawione zostały jako współczynnik QS, który stanowi iloczyn obu ocenianych parametrów. Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o właściwe testy statystyczne. Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie nr KB-0012/224/06/17 z dnia 26.06.2017 r. Zastosowana metodologia badawcza jest właściwa do realizacji założonego celu, jednakże wartość poznawcza pracy byłaby zdecydowanie wyższa, gdyby badanie przeprowadzono na większej grupie chorych, zwłaszcza w kontekście częstości występowania i raka piersi.

Badania podjęte przez Doktorantkę zostały opisane w rozdziale „Wyniki” i wykazały brak ekspresji E-kadheryny w komórkach rakowych w guzie pierwotnym w przypadku zajęcia przerzutami więcej niż 10 węzłów chłonnych oraz istotnie niższą jej ekspresję w raku zrazikowym w stosunku do raka przewodowego. Z kolei ekspresja Slug w raku zrazikowym

była istotnie wyższa w porównaniu do raka przewodowego. Doktorantka wykazała również istotnie niższą ekspresję wimentyny w rakach luminalnych A w stosunku do pozostałych molekularnych typów raka piersi, jej istotnie statystycznie wyższą ekspresję w rakach luminalnych B HER2-dodatnich w odniesieniu do raków luminalnych B HER2-ujemnych, a także wyższą ekspresję w rakach o indeksie proliferacyjnym Ki67 > 20% w odniesieniu do indeksu proliferacyjnego $\leq 20\%$. Doktorantka wykazała również, że ekspresja Snail jest istotnie niższa w rakach w piersi PR-dodatnich w odniesieniu do fenotypu z brakiem ekspresji PR. Wyniki zostały zaprezentowane w postaci poprawnie przygotowanych tabel oraz rycin i stanowią rozszerzenie obecnie istniejącego stanu wiedzy w zakresie ekspresji markerów EMT w raku piersi. Jedynym mankamentem jest brak oznaczenia istotności statystycznych na wykresach, co znacznie podniosłoby ich czytelność i wartość merytoryczną.

Otrzymane wyniki zostały omówione przez Doktorantkę w kontekście doniesień literaturowych w rozdziale „Dyskusja”. Rozdział ten jest napisany rzeczowo i merytorycznie. Obejmuje wszystkie niezbędne aspekty związane z zakresem merytorycznym rozprawy.

Część merytoryczną pracy kończą trzy wnioski: (1) Utrata ekspresji jednego z markerów nabłonkowych (E-kadheryny) przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej może mieć związek ze zwiększoną inwazyjnością raka piersi w zakresie przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych, (2) Ekspresja wybranych markerów mezenchymalnych (Slug, Snail, wimentyny) przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej stanowi dodatkową charakterystykę molekularną raków piersi, (3) Markery przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej mogą w przyszłości stać się celem terapii redukujących zdolność raka piersi do dawania przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych. Wnioski odpowiadają celowi pracy. Jednakże z obowiązku recenzenta jestem zobligowany wskazać, że z pozoru „bezpiecznie” sformułowany wniosek nr 1 jest jednocześnie bardzo „odważny”, szczególnie w kontekście zaledwie dwóch przypadków z przerzutami do 10 lub większej liczby regionalnych węzłów chłonnych.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że ujęte w rozprawie doktorskiej wyniki są spójne i przydatne z punktu widzenia podjętej problematyki badawczej. Doktorantka pokazała, że potrafi samodzielnie sformułować i rozwiązać problem naukowy, a także wykorzystała rutynowy warsztat badawczy. Potrafi również przeprowadzić dyskusję swoich wyników z wynikami innych grup badawczych. Stąd jednoznacznie stwierdzam, że rozprawa doktorska



lek. Barnadety Chajnowskiej pt. „Związek wybranych markerów przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej z parametrami kliniczno-morfologicznymi, klasyfikacją molekularną i rokowaniem u pacjentek z naciekającym rakiem piersi” spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2020 r. poz. 85, z późn. zm.). Dlatego wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie lek. Barnadety Chajnowskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

dr hab. n. med. i n. o.zdr. Maciej Gagat, prof. UMK