



UCZELNIA
ŁAZARSKIEGO

WYDZIAŁ
MEDYCZNY

dr hab. n. med. Bartłomiej Kwiek

Profesor Uczelni Łazarskiego

Wydział Medyczny Uczelni Łazarskiego

Ul. Świeradowska 43ni

02-662 Warszawa

VIDI:

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY I ANKI MEDYCZNE
Przewodniczący

09-05-2024

prof. dr hab. Agnieszka Haloń

Warszawa 30.04.2024

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lekarz Marta Bağlaj-Oleszczuk zatytułowanej:

„Ocena ekspresji iryzyiny, periostyny i podoplaniny w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnokomórkowym i kolczystokomórkowym skóry”.

Rogowacenie słoneczne i raki keratynocytowe skóry to jedno z najczęstszych schorzeń w populacji osób starszych i najczęstsza grupa nowotworów i stanów przednowotworowych u osób rasy kaukaskiej. Pomimo swojej częstości zwykle nie stanowią zagrożenia życia poprzez niską skłonność do dawania przerzutów i zwykle relatywnie wczesne rozpoznanie związane z widocznością zmian na skórze i łatwą dostępnością do badania klinicznego, dermoskopowego i histopatologicznego. Jednocześnie raki te, w tym szczególnie rak podstawnokomórkowy cechuje się wysokim odsetkiem wznów, a osoby u których rozpoznano raka keratynocytowego mają większe ryzyko powstawania kolejnych nowotworów. Prowadzi to często do wieloletniej chorobowości i znacznego obniżenia jakości życia. Szczególnym wyzwaniem jest lokalizacja raków skóry, które najczęściej występują na twarzy. W tych miejscach nie jest często możliwe optymalne wycięcie chirurgiczne z dużym marginesem zmian, które daje szansę na najniższy odsetek wznów. Dlatego też od lat poszukuje się tkankowych markerów nowotworach, które

pomogły by na wczesne określenie potencjału do szybkiego wzrostu i naciekania tkanek, potencjału do wznowy czy przerzutowości. Badania nad ekspresją nowo poznanych białek w obrębie nowotworów daje szansę nie tylko na wzbogacenie metod diagnostycznych, ale także daje możliwość wglądu w proces powstawania nowotworu i reakcji organizmu na proces karcynogenezy, co może wpływać na lepsze rozpoznanie czynników ryzyka, poprawę profilaktyki czy wreszcie wprowadzenia nowych metod leczenia. W tym kontekście podjęcie przez lekarz Martę Bagłaj-Oleszczuk badania w rakach skóry trzech niedawno poznanych białek, wobec których istnieją doniesienia o ich roli w procesach kancerogenezy i reakcji tkanki na nowotwór jest nad wyraz zasadne.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lekarz Marty Bagłaj-Oleszczuk obejmuje 87 stron pracy w klasycznym układzie z syntetycznie przedstawionymi następującymi rozdziałami: wykaz skrótów, wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki w tym 23 ryciny obejmujące 12 fotografii znakowań immunohistochemicznych i 11 grafów obrazujących półilościową ocenę ekspresji badanych białek lub korelacji wyników, dyskusję, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim i bogate piśmiennictwo, na które składają się 173. Wszystkie rozdziały posiadają właściwe proporcje dla prac doktorskich oraz zawierają adekwatne dla nich treści.

W pierwszym rozdziale rozprawy Doktorantka szczegółowo omawia znane funkcje badanych białek: iryzyny, periostyny i podoplaniny oraz ekspresję tych białek w chorobach skóry i nowotworach ze szczególnym uwzględnieniem ich potencjalnego znaczenia dla procesów karcynogenezy i reakcji tkanki na wzrost guza. Przedstawione we wstępie dane literaturowe i ich krytyczna analiza wskazują na luki w stanie dotychczasowej wiedzy i wysoki potencjał dla badań nad rolą każdego z nich w rozwoju raków skóry i/lub w diagnostyce tych nowotworów. W kolejnych podrozdziałach doktorantka wprowadza czytelnika w

uporządkowany i syntetyczny sposób kolejno w zagadnienia omawianych schorzeń: raka kolczystokomórkowego (SCC), raka podstawnkomórkowego (BCC) i rogowacenia słonecznego (KA) jako stanu przednowotworowego/śródnabłonkowego nowotworu. Wprowadzenie literaturowe pozwala Czytelnikowi zapoznać się z kontekstem przeprowadzonego badania.

Doktorantka klarownie sformułowała dwa cele badania. Zastosowane metody badawcze zostały właściwie dobrane do zrealizowania postawionych celów. Badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (opinia Komisji Bioetycznej nr KB - 100/2021. Badaną objęło 196 bloczki parafinowe od pacjentów z badanymi schorzeniami i miało retrospektywny charakter. Na uwagę zasługuje znaczna ilość badanych przypadków raka podstawnkomórkowego (104 analizowane przypadki). W badaniu wykorzystano barwienie histochemiczne z wykorzystaniem poliklonalnych przeciwciał (periostyna i iryzyna) i monoklonalnego dla podoplaniny, oddzielnie dla każdego z badanych białek.

Doktorantka postanowiła zestawić badanie wyżej wymienionych markerów ze standardowym markerem proliferacji komórek Ki-67 co jest zasadnym wyborem w kontekście poszukiwań korelacji z ekspresją badanych i ich znaczeniem dla wzrostu nowotworu.

Wyniki przedstawione są jasno i zwięźle. Doktorantce udało zaobserwować zjawiska o potencjalnym znaczeniu praktycznym i które wskazują nowe kierunki badań. Jedną z najciekawszych obserwacji jest wskazanie ujemnej korelacji czasu trwania BCC i ekspresji periostyny. Doktorantka krytycznie i właściwie analizuje to odkrycie w dyskusji i słusznie wskazuje na potrzebę dalszych badań w tym zakresie. Nie jest bowiem jasne jak interpretować to zjawisko: czy należy je rozumieć poprzez wyższą ekspresję periostyny w szybko rosnących guzach, czy jako stopniowe zanikanie tego antygenu wraz z czasem trwania choroby? Wydaje

się zasadne wykorzystać dostępne materiały do tych dalszych badań, np. w oparciu o analizę innych czynników prognostycznych takich jak podtyp kliniczny czy histopatologiczny guza na podstawie dostępnej dokumentacji lub ponownej analizy preparatów histopatologicznych.

Kolejną niezwykle ciekawą obserwacją doktorantki jest przedstawiona na rycinie istotna statystycznie wyższa ekspresja periostyny w BCC w stosunku zarówno do SCC jak i KA. Jak słusznie zauważa doktorantka, może to być związane z pokrewieństwem KA i SCC. W dyskusji słusznie zauważa, że różnice te nie mogą być związane wprost ze złośliwością guza. Nasuwa się pytanie, czy nie są one związane z charakterystycznym dla BCC dużym rozplemem podścieliska? W tym kontekście odkrycie to znów wydaje się stymulować dalsze badania dotyczące ekspresji periostyny w zależności od podtypu klinicznego/histopatologicznego BCC.

Głównym czynnikiem kancerogennym w powstawaniu raków skóry jest promieniowanie UV. Dlatego obserwacja wskazująca na wyższą ekspresję podoplaniny w miejscach eksponowanych na słońce jest niezwykle cenna i otwiera szereg badawczych zagadnień na przyszłość. Na dojrzały i krytyczny stosunek do własnych obserwacji, wskazuje zwrócenie uwagi na niewielką liczbę przypadków SCC na skórze osłoniętej.

Doktorantka dokładnie przedstawia liczby badanych biopsji dla każdego z markerów, których liczba jest każdorazowo wystarczająco wysoka. Dla porządku warto by było określić w metodach przyczyny różnic pomiędzy liczbami analizowanych tkanek dla każdego z nich (np. niewystarczająca ilość materiału).

Dyskusja jest przeprowadzona w sposób wskazujący na doskonałą znajomość roli badanych białek w procesach karcynogenezy i reakcji tkanek na rozwój guza i poparta jest bogatym i aktualnym piśmiennictwem.

Edycja pracy jest staranna i ułatwia analizę tematu i uzyskanych danych. Ryciny są należycie opisane w tekście i wstawione w optymalnych dla ich rozumienia miejscach tekstu.

Dla łatwiejszego poruszania się po pracy przez czytelnika celowym wydaje się wzbogacenie podpisów rycin o informację czy dany obraz histopatologiczny jest reprezentatywny dla całej grupy badanej czy dla wybranych pacjentów (np. ekspresja podoplaniny w AK – obraz reprezentatywny dla 7/38 przypadków). Przedstawienie liczby przypadków w opisach rycin ułatwiło by też jednoznaczną interpretację wykresów. Dla przykładu, w rycinie nr 8 zgodnie z tekstem odnośnego akapitu można spodziewać się 108 punktów. Nie jest zatem klarowne czy wybrane przypadki pokrywają się czy część przypadków nie miała danych dotyczących czasu trwania choroby. Zastanawiający jest również brak punktów na osi ekspresji periostyny z wartością 0? Ponadto na osiach wykresów powinny być wyszczególnione jednostki. Dla przykładu: na osi „duration” nie jest jasne czy jednostki to miesiące czy lata nawet po przeczytaniu odpowiadającego tekstu, i nawet niejednoznaczne po cofnięciu się do podrozdziału opisującego metody. Angielskie podpisy osi są jasne i czytelne i świadczą o przygotowaniu pracy do publikacji w czasopiśmie anglojęzycznym jednak w polskojęzycznym opracowaniu można by było ich uniknąć.

Dla porządku wymieniam inne drobne błędy edytorskie nie umniejszające wagi pracy i nie utrudniające jej interpretacji:

- str. 12 Rogowacenie ciemne obejmuje też okolice pachwinowe;
- str. 14 jest „and” a powinno być „i” ;
- skrót ERM nie ma rozwinięcia i nie jest uwzględniony w wykazie skrótów (erzyna, radyksyna, meozyna;
- pojęcie tłumaczenie NMSC lepiej tłumaczyć jako niemelanocytowe nowotwory skóry a nie niemelanocytowe raki na węższe znaczenie słowa cancer w języku polskim. Doktorantka używała zamiennie dwóch wariantów;

- na stronie 16 syntetycznie ujęte zagadnienie dotyczące cytokin może być odczytane w sposób sugerujący kancerogenne działanie IL-6 i TNF alfa,
- Na stronie 18 „osobną grupę” warto zmienić na „inną” bo omawiane grupy pokrywają się;
- na stronie 18 sformułowanie pierwotne ognisko sugeruje występowanie przerzutów, a nie kolejnych guzów *de novo*.

We wnioskach doktorantka zgodnie z celem pracy wskazuje na obecność badanych białek we wszystkich badanych schorzeniach co może potencjalnie sugerować ich rolę w procesach karcynogenezy (wniosek pierwszy)

We wniosku drugim obserwacja o braku różnic pomiędzy badanymi schorzeniami w ekspresji iryzyny wg. doktorantki wskazuje na brak potwierdzenia protekcyjnej roli tego białka w hamowaniu powstawania NMSC może być słuszny ale zbyt jednoznaczny. W obserwacyjnym i morfologicznym badaniu wieloczynnikowych chorób jakimi są NMSC lepiej użyć sformułowania o możliwych zależnościach (braku zależności). Warte podkreślenia jest ostrożniejsze sformułowanie stwierdzenia przeciwnego przez doktorantkę we wniosku nr 4 (protecyjne działanie iryzyny).

Wniosek numer 3 dotyczy jednej z najciekawszych obserwacji Doktorantki co zostało przeze mnie omówione wcześniej przeze mnie powyżej, jednak wyekstrahowany w tak syntetycznej formie nie jest do końca czytelny. Lepiej być może by było wskazać na pokrewieństwo obu schorzeń i kontinuum transformacji AK-SCC?

Wniosek 5 opiera się o ciekawą obserwację różnic ekspresji podoplaniny pomiędzy badanymi schorzeniami i szereguje NMSC zgodnie ze stopniem klinicznej złośliwości zmian.

Wniosek 6 jest poprawnie wywiedziony i niezwykle wartościowy, a jego ograniczenia wskazane zostały przez doktorantkę w dyskusji i omówione przeze mnie wyżej.

Obserwacja dotycząca zależności ekspresji periostyny od czasu trwania BCC nie została umieszczona przez doktorantkę we wnioskach, prawdopodobnie ze względu na trudność w jej jednoznacznej interpretacji. Pozwoliłem sobie ją tu wspomnieć, bo wg. mnie, jest jednym z najciekawszych odkryć przedstawionej pracy, opartym na dużej liczbie badanych przypadków BCC.

Dobrą pracę najlepiej charakteryzuje inspiracja do dalszych badań. Niewątpliwie tak jest w przypadku przedstawionej rozprawy. Bardzo bogaty materiał i doświadczenie doktorantki warto by było wykorzystać i w przyszłych badaniach pokusić się o zestawienie diagnoz klinicznych z przed wykonania badania histopatologicznego, oraz szczegółowych rozpoznań histopatologicznych w tych przypadkach w jakich to miało miejsce (tj. podtypów rogowacenia słonecznego, podtypów BCC) i innych znanych cech mających wpływ na rokowanie. Znaczenie tego faktu można lepiej zrozumieć na przykładzie rogowacenia słonecznego. Standardowo bowiem, rozpoznanie KA opiera się na badaniu klinicznym, a biopsja pobierana jest w przypadku podejrzenia przejścia w SCC lub problemów z różnicowaniem z innymi schorzeniami. W ośrodku akademickim, możliwe jest jednak, że biopsje pochodzą z innych badań klinicznych gdzie rozpoznanie kliniczne było jasne. W zależności od pochodzenia biopsji, można mieć zatem do czynienia ze stanami bardziej zaawansowanymi lub wczesnymi zmianami co może być istotne w kontekście uzyskanych wyników, i różnic w ekspresji badanych białek pomiędzy pacjentami.

Podsumowując, rozprawę doktorską lekarz Marty Bagłaj-Oleszczuk oceniam bardzo wysoko. Całość pracy potwierdza, że Doktorantka posiada wysokie umiejętności do przygotowania i prowadzenia prac badawczych.



Na tej podstawie stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarz Marta Bałąj-Oleszczuk zatytułowanej: **„Ocena ekspresji iryzyny, periostyny i podoplaniny w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnokomórkowym i kolczystokomórkowym skóry”** spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2022 r., poz. 574 ze zm.). W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o pozytywną ocenę rozprawy wraz z wnioskiem o dopuszczenie lekarz Marty Bałąj-Oleszczuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med. Bartłomiej Kwiek; Prof. UŁa