



**UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Histologii i Embriologii
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz
tel. 52 585 37 25

VLB/15
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLIN NAUKI MEDYCZNE
Prof. dr hab. Agnieszka Halon

Uniwersytet Medyczny
we Wrocławiu



RPW/6093/2024 P
Data:2024-04-11

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCIPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. czia	11-04-2024
L. dz. RN-BW/	614

Bydgoszcz, dn. 8.04.2024 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Ocena ekspresji iryzyny, periostyny i podoplaniny w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnokomórkowym i kolczystokomórkowym skóry”

autorstwa lek. Marty Bałaj-Oleszczuk

realizowanej w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
pod kierownictwem prof. dr hab. Jacka Szepietowskiego

promotorzy:

dr hab. Alina Jankowska-Konsur

prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska na stopień doktora nauk medycznych pt. „Ocena ekspresji iryzyny, periostyny i podoplaniny w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnokomórkowym i kolczystokomórkowym skóry” porusza niezwykle ciekawe merytorycznie i potrzebne w dziedzinie nauk medycznych zagadnienia dotyczące próby wyjaśnienia aktywności biologicznej iryzyny, periostyny i podoplaniny w niemelanocytowych nowotworach skóry.

Rozprawa autorstwa lek. Marty Bałaj-Oleszczuk została przygotowana w postaci monografii o charakterze eksperymentalnym. Praca obejmuje 87 stron i ma właściwy układ dla rozprawy doktorskiej realizowanej w dyscyplinie nauki medyczne. W rozprawie doktorskiej ujęto kolejno: „Wstęp”, „Cele pracy”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Streszczenie” w języku polskim i angielskim oraz „Piśmiennictwo”. Część merytoryczna rozprawy została poprzedzona „Wykazem skrótów”. Sposób edycji pracy nie budzi większych zastrzeżeń. Odnotowałem nieliczne błędy literowe i interpunkcyjne, które nie umniejszają jakości rozprawy.

„Wstęp” do pracy został oparty o poprawnie dobrane i aktualne piśmiennictwo z zakresu tematyki badawczej. Rozdział ten obejmuje konsekwentne przedstawienie podstawowych



informacji dotyczących badanych białek: od ich odkrycia, przez budowę, aż po funkcję i rolę w chorobach nowotworowych lub dermatopatologiach. We „Wstępie”, Doktorantka ujęła równie konsekwentnie podstawowe informacje wprowadzające do histopatologicznej tematyki pracy i dotyczące rogowacenia słonecznego oraz niemelanocytowych raków skóry, w tym raka podstawnocomórkowego oraz raka kolczystocomórkowego. Rozdział jest napisany w sposób zrozumiały i wprowadza czytelnika do lektury dalszych części rozprawy. Jedynym zastrzeżeniem jest brak jednolitego nazewnictwa integryn. Dla przykładu Doktorantka używa różnych nazw receptora integrynowego („ $\alpha V/\beta 1$ ” i „ $\alpha V/\beta 5$ ” oraz „ $\alpha V\beta 5$ ” i „ $\alpha V\beta 1$ ” na stronie 7 rozprawy, natomiast na stronie 14: „ $\alpha v\beta 3$ ” i „ $\alpha v\beta 5$ ”). W rozdziale tym znalazło się kilka angielskich słów „and”, np. na stronie 14 w zdaniu „Co ciekawe, oddziaływanie na komórki odbywa się za pomocą tego samego receptora co receptor dla iryzyny, tj. $\alpha v\beta 3$ and $\alpha v\beta 5$ (...)” oraz na stronie 23 w zdaniu „Zanotowano również, że ekspresja PDPN w keratynocytach była stymulowana przez TGF- $\beta 1$, IFN- γ , IL-6, and IL-22 (...)”. W tym ostatnim skrótowe nazwy białek powinny zawierać litery greckie zamiast łacińskich. Nie mniej jednak błędy te nie mają wymiaru merytorycznego i traktuję je jako „chochliki drukarskie”.

Doktorantka we „Wstępie” oraz wprowadzeniu do celów pracy słusznie wskazała brak spójności i niejednoznaczność wyników różnych grup badawczych, a także złożoność problemu naukowego, przez co potwierdziła zasadność przeprowadzenia badań, których celem nadrzędnym było zbadanie występowania iryzyny, periostyny oraz podoplaniny, jak również określenie ich wzajemnej korelacji w niemelanocytowych zmianach łagodnych i rakach skóry. W rozdziale „Cele pracy”, Doktorantka wskazała dwa cele szczegółowe, które obejmowały kolejno: (1) Określenie lokalizacji i poziomu ekspresji iryzyny, periostyny oraz podoplaniny w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnocomórkowym i raku kolczystocomórkowym skóry; (2) Analizę korelacji ekspresji iryzyny, periostyny oraz podoplaniny z ekspresją antygenu proliferacyjnego Ki-67 oraz danymi klinicznymi w badanych przypadkach.

Badania przeprowadzono na materiale tkankowym, który stanowiły archiwalne bloczki parafinowe pochodzące od 196 potwierdzonych badaniem histopatologicznym chorych, z czego 42 przypadki reprezentowały przedrakową zmianę skórną w postaci rogowacenia słonecznego, 104 przypadki raka podstawnocomórkowego skóry oraz 50 przypadków raka kolczystocomórkowego skóry. Materiał pochodził od pacjentów z Kliniki Dermatologii, Wenerologii i Alergologii we Wrocławiu z lat 2013-2019. Na przeprowadzenie badań uzyskano

zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (nr KB – 100/2021). Wykonano barwienie immunohistochemiczne wobec iryzyiny, periostyny, podoplaniny i Ki-67 wg standardowej procedury barwienia, a następnie oceniono nasilenie reakcji immunohistochemicznych wobec iryzyiny, periostyny, podoplaniny w obrębie komórek nowotworowych lub podścieliska skalą IRS wg Remmele i Stenger. Ekspresję antygenu Ki-67 Doktorantka oceniała skalą nasilenia ekspresji poprzez liczenie pozytywnych jąder komórek nowotworowych w stosunku do wszystkich jąder komórek nowotworowych, gdzie do odpowiednich zakresów odsetka immunoreaktywnych jąder komórkowych została przypisana wartość punktowa. Do analizy uzyskanych wartości liczbowych wykorzystano właściwe narzędzia i testy statystyczne.

W kontekście opisu metod, mam kilka pytań do Doktorantki:

- 1) Dlaczego pominięto etap niebieszczenia hematoksyliny w opisie przeprowadzenia reakcji immunohistochemicznych?
- 2) Jaka była konfiguracja mikroskopu optycznego Olympus BX41 stosowanego do oceny nasilenia reakcji, skoro zastosowano powiększenia 100x, 200x i 400x?
- 3) Czy oceny dokonano bezpośrednio przy użyciu mikroskopu Olympus BX41, czy jednak na całościowo zeskanowanych preparatach, skoro do dokumentacji fotograficznej wykorzystano oprogramowanie producenta skanerów preparatów histologicznych?
- 4) Wobec powyższych pytań, jaka była ilość preparatów/skrawków materiału/regionów zainteresowania, na których dokonano oceny stopnia nasilenia ekspresji badanych białek?

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń i analiz zostały przez Doktorantkę opisane w rozdziale „Wyniki” i zaprezentowane w postaci 23 rycin obejmujących reprezentatywne zdjęcia mikroskopowe barwień immunohistochemicznych i wykresy przedstawiające dane liczbowe. Rozdział ten jest bardzo dobrze napisany i prezentuje tylko najistotniejsze efekty przeprowadzonych doświadczeń. Ma to ogromną zaletę wpływającą na przejrzystość i objętość pracy. Jednakże w kontekście szerszej prezentacji i publikacji wyników pokusiłbym się jednak na graficzne przedstawienie nawet statystycznie nieistotnych wyników w postaci rycin matrycowych przedstawiających ekspresję białka w kontekście płci, wieku, czasu trwania

choroby, a także głębokości nacieku nowotworowego. Odnotowałem również nieliczne błędy literowe, interpunkcyjne i niepotrzebne wyrażenia anglojęzyczne (np. anglojęzyczna nazwa testu statystycznego na stronie 53, w której słowo „Comparision” powinno być zapisane jako „Comparisons”). Jednakże, w rozdziale tym, Doktorantka ponownie wykazała się konsekwencją w zakresie logicznego podziału treści. Za najważniejsze wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej uważam: (1) brak istotnych statystycznie różnic w nasileniu ekspresji iryzyny pomiędzy badanymi jednostkami chorobowymi; (2) istotne statystycznie różnice w nasileniu ekspresji periostyny pomiędzy rakiem podstawnkomórkowym skóry a rogowaceniem słonecznym oraz pomiędzy rakiem podstawnkomórkowym a rakiem kolczystokomórkowym skóry; (3) istotne statystycznie różnice w nasileniu ekspresji podoplaniny pomiędzy rakiem podstawnkomórkowym a rogowacieniem słonecznym i rakiem kolczystokomórkowym skóry oraz rogowacieniem słonecznym a rakiem kolczystokomórkowym skóry; (4) istotne statystycznie różnice w nasileniu ekspresji Ki-67 pomiędzy rogowacieniem słonecznym a rakiem podstawnkomórkowym skóry oraz rogowacieniem słonecznym a rakiem kolczystokomórkowym skóry; (5) ujemną korelację pomiędzy ekspresją periostyny a ekspresją iryzyny w raku podstawnkomórkowym skóry; (6) istotnie statystycznie wyższą ekspresję Ki-67 w miejscach nieeksponowanych na promieniowanie UV w odniesieniu do miejsc przewlekłe eksponowanych w rogowaceniu słonecznym; (7) ujemną korelację między ekspresją periostyny a czasem trwania choroby w raku podstawnkomórkowym skóry; (8) istotnie statystycznie wyższą ekspresję periostyny u kobiet w raku kolczystokomórkowym skóry.

W kontekście zaprezentowanych wyników prac doświadczalnych, mam również kilka pytań do Doktorantki:

- 1) Dlaczego analizę ekspresji iryzyny przeprowadzono na 40 a nie na 42 przypadkach rogowacenia słonecznego, jak miało to miejsce w przypadku periostyny i Ki-67?
- 2) Podobnie, dlaczego analizę ekspresji iryzyny przeprowadzono na 38 a nie na 42 przypadkach rogowacenia słonecznego?
- 3) Dlaczego na rycinach prezentujących wykresy znajdują się angielskie nazwy, skoro rozprawa napisana jest w języku polskim?

Z obowiązku recenzenta zwracam również uwagę, że w tytułach rycin przedstawiających zdjęcia mikroskopowe znajdują się powiększenia, które nie odzwierciedlają faktycznego powiększenia zdjęcia w postaci wydruku komputerowego. Bardziej czytelnym i merytorycznie poprawnym byłoby odniesienie się do rozmiarów odcinka pomiarowego wtopionego w obraz mikroskopowy albo wskazanie powiększenia obiektywu mikroskopowego. W kontekście odcinka pomiarowego, jest on nieczytelny bądź bardzo słabo czytelny na większości rycin przedstawiających barwienia immunohistochemiczne.

Otrzymane wyniki zostały przedyskutowane przez Doktorantkę z wynikami innych grup badawczych. Rozdział ten został napisany w sposób zrozumiały, kompletny i krytyczny wobec swoich wyników, co potwierdza dużą świadomość Doktorantki w zakresie obranej tematyki i kierunku przeprowadzonych badań będących podstawą do przygotowania ocenianej przeze mnie rozprawy doktorskiej.

Część merytoryczną pracy kończy sześć wniosków: (1) Wykazana obecność ekspresji iryzyny, periostyny oraz podoplaniny w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnokomórkowym i raku kolczystokomórkowym skóry może sugerować ich potencjalną rolę w powstawaniu tych zmian i/lub ich progresji. (2) Brak istotnych statystycznie różnic w ekspresji iryzyny między rogowaceniem słonecznym, rakiem podstawnokomórkowym oraz rakiem kolczystokomórkowym skóry nie potwierdza jej protekcyjnej roli w rozwoju niemelanocytowych raków skóry. (3) Zbliżony poziom ekspresji periostyny w zmianie łagodnej (rogowacenie słoneczne) i nowotworowej (rak kolczystokomórkowy skóry) sugeruje możliwość transformacji nowotworowej komórek. (4) Jedynie w raku podstawnokomórkowym analiza korelacji wykazała istotną ujemną zależność między ekspresją iryzyny i periostyny, co może sugerować ochronną rolę iryzyny oraz prokancerogenną periostyny. (5) Istotne statystycznie różnice w nasileniu ekspresji podoplaniny wraz ze wzrostem stopnia złośliwości badanych zmian skórnych może wskazywać na rolę tego białka w transformacji nowotworowej oraz progresji zmian. (6) Jedynie w raku kolczystokomórkowym wyższa ekspresja podoplaniny w zmianach zlokalizowanych na skórze ekspozowanej na promienie UV potwierdza doniesienia o wiodącej roli promieniowania UV w transformacji nowotworowej NMSC.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że ujęte w rozprawie prace naukowe są spójne tematycznie i przydatne z punktu widzenia podjętej problematyki badawczej. Doktorantka pokazała, że potrafi sformułować i rozwiązać problem naukowy, wykorzystać dostępne warsztaty badawczy, a także szeroko właściwie przeanalizować i przedyskutować uzyskane wyniki badań z wynikami opublikowanymi przez inne grupy badawcze. Stąd jednoznacznie stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Marty Bağłaj-Oleszczuk pt. „Ocena ekspresji iryzyny, periostyny i podoplaniny w rogowaceniu słonecznym, raku podstawnokomórkowym i koczystokomórkowym skóry” spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668). Dlatego wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Marty Bağłaj-Oleszczuk do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Ponadto, z uwagi na wysoką wartość poznawczą pracy, jakość przeprowadzonych badań, sprostanie trudnościom interpretacyjnym otrzymanych wyników, a także wysoką świadomość ograniczeń metodologicznych przeprowadzonych badań, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o wyróżnienie rozprawy doktorskiej autorstwa lek. Marty Bağłaj-Oleszczuk.


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