

OCENA

Pracy doktorskiej lek. Łukasza Szpona pt. „ *Nadekspresja ARID1A/BAF 250a w raku inwazyjnym gruczołu piersiowego* ”

Wyzwaniem dla współczesnej terapii onkologicznej jest opracowanie indywidualnych protokołów postępowania terapeutycznych dopasowanych do właściwości biologicznych każdego nowotworu złośliwego. Nie wytrzymuje próby czasu schemat leczenia oparty jedynie na ustaleniu typu histologicznego raka piersi, jego stopnia zróżnicowania i zaawansowania. Pierwsze obserwacje dotyczące heterogenności guzów nowotworowych dotyczą właśnie raka piersi, w którym współczesne leczenie uwzględnia typ biologiczny guza determinowany przez status receptorów estrogenowych, progesteronowych oraz Her-2. Poszukuje się nadal w tej grupie nowotworów czynników predykcyjnych lepiej określających indywidualne biologiczne właściwości poszczególnych guzów. Autor podejmuje ważny temat poszukiwania przydatności oznaczania ekspresji białka BAF250A w regulacji transkrypcyjnej aktywacji genów i wpływ na przebieg kliniczny choroby jaką jest rak piersi, korelacja z oznaczanymi w raportach histopatologicznych cechach morfologicznych raka.

Przedmiotem rozprawy i zainteresowań autora jest określenie użyteczności oznaczania ekspresji BAF250A w komórkach naciekającego raka w korelacji do klasycznych czynników rokowniczych warunkujących przebieg choroby nowotworowej takich jak zaawansowanie nowotworu definiowane poprzez system TNM, typ histopatologiczny raka, obecność i zasięg przerzutów nowotworowych do węzłów chłonnych oraz wybranych cech klinicznych pacjentek takich jak wiek, lokalizacja guza w piersi prawej, lewej i poszczególnych kwadrantach.

Wybór tematu jest istotny wobec nie do końca zdefiniowanej roli białka BAF250A w regulacji cyklu komórkowego raka piersi procesie hamowania proliferacji komórek. Ma to ważne znaczenie w poszerzeniu wiedzy dotyczącej właściwości biologicznych raka piersi.

Cele szczegółowe pracy są ukryte w zwartym układzie tekstu i nie są wymienione w punktach . Obejmują one ocenę :

- ekspresji białka BAF250 A w wycinkach tkankowych pobranych w różnych typach histologicznych raka piersi
- wzajemnej korelacji ekspresji tego białka w stosunku do przebiegu klinicznego określanego poprzez ocenę wybranych cech morfologiczno-patologicznych takich jak wielkość guza, występowanie przerzutów komórek raka w węzłach chłonnych , stopień złośliwości a raczej powinno być – stopień odróżnicowania nowotworu , typu histologicznego guza i status receptorów estrogenowych i progesteronowych, a także wybranych informacji klinicznych o niewielkim wpływie na rokowanie to jest wiek, status czynności estrogenowej pacjentek , lokalizacja guza w piersiach.

Praca liczy 52 strony, łącznie z 11 tabelami, 9 rycin i 72 pozycjami cytowanego piśmiennictwa. Układ pracy jest właściwy dla opracowań o charakterze oryginalnym, jego 6 rozdziałów zostało ponumerowanych . Wstęp zbyt obszerny w stosunku do objętości reszty rozdziałów został podzielony na 11 części. W rozdziale: *Rys historyczny , leczenie raka* autor przedstawił historię odkryć i dokonań medycznych od czasów starożytnej kultury egipskiej do aktualnych trendów w leczeniu raka piersi. W kolejnym rozdziale doktorant omawia dane epidemiologiczne dotyczące częstości zachorowań na raka w Polsce i na świecie oraz aktualne tendencje terapeutyczne wykrywanych we wczesnym stadium , niezaawansowanych guzów , a także stosowane terapie spersonalizowane. W następnym rozdziale są przedstawione są korelacje patogenetyczne związane z ekspozycją kobiet na hormony estrogenowe oraz informacje dotyczące występowania genetycznych mutacji prowadzących do wcześniejszych zachorowań rodzinnych na raka piersi . W dalszym rozdziale autor omawia metody stosowane w diagnostyce raka piersi w tym techniki obrazowe : mammografię, USG, PET oraz metody pobierania materiału komórkowego i tkankowego do badań histopatologicznych i cytologicznych. Kolejne rozdziały to przedstawienie klasyfikacji klinicznej TNM z roku 2010 i klasyfikacji histologicznej WHO raka piersi z roku 2012 . W kolejnych podrozdziałach autor przybliży czytelnikowi wpływ modyfikacji chromatyny na regulację genów w fazie transkrypcji w tym rolę metylacji DNA, modyfikacje histonów wpływające na kondensację chromatyny . W następnym podrozdziale jest przedstawiona rola białka BAF 250 A towarzyszącego kompleksowi SNI/SNF w przebudowie nukleosomu.

Rozdział *Metody* zawiera opis stosowanej metodyki wykonania oznaczeń immunohistochemicznych receptorów dla przeciwciała monoklonalnego ARIDA .W rozdziale pojawił się błąd w opisie metodyki płukania preparatów histologicznych po inkubacji z przeciwciałem pierwszorzędowym na str.26 powinno w opisie być ...płukano dwukrotnie roztworem soli fizjologicznej buforowanej fosforanami a nie fosforanem . Następnie autor przedstawia zastosowane przez siebie metody analizy statystycznej dla porównania grupy badanej z grupą kontrolną.

W rozdziale *Omówienie wyników* przedstawiona jest charakterystyka histopatologicznych typów diagnozowanych raków w grupie badanej i ich zaawansowanie w skali TNM. Najczęściej diagnozowano raka przewodowego o

średniej średnicy guza 18,5 mm w stopniu zaawansowania T1 . Najczęściej guzy były zlokalizowane w górnym zewnętrznym kwadrancie piersi. Na stronie 29 proponuję użyć określenia zajęty zamiast *dotknięty przez guz prawy gruczoł* . Średnia wartość ekspresji BAF250A była wyższa w grupie wycinków tkankowych pobranych u kobiet z rakiem wynosząc 79,4 % w porównaniu do wartości 67,6% w grupie kontrolnej 67,6%. Następnie doktorant przeprowadził analizę wieloparametryczną zależności ekspresji BAF250A od wieku, menopauzy typu histologicznego ,średnicy i lokalizacji guza oraz występowania przerzutów do węzłów chłonnych .Analiza nie wykazała istotnych statystycznie zależności . Na stronie 32 w tytule ryciny 3 i tabeli nr 7 proponuję zamienić : *porównanie ekspresji BAF250A w grupie pacjentów z różnymi diagnozami* na : w zależności od typu histopatologicznego raka. Również na stronie 36 w opisie Ryc. 7 i Tabeli 11 proponuję zamienić sformułowanie *...z różnymi przerzutami do węzłów chłonnych* na *do węzłów chłonnych w poszczególnych stopniach zaawansowania przerzutów* . Niestety nie znalazłem odniesienia w prezentowanych wynikach do jednego z celów przeprowadzonych badań a mianowicie do stanu hormonalnego badanych próbek raka w zakresie oznaczeń receptorów ER i PR i tym samym odnoszenie do nie uzyskanych wyników w rozdziale dyskusja uważam za chybione.

Doktorant poprowadził dyskusję w sposób świadczący o dobrej znajomości tematu, z zastosowaniem odniesień do istotnych aktualnych pozycji światowego piśmiennictwa, w tym 10 z ostatnich 5 lat. Świadczy to o znajomości przez lekarza Łukasza Szpona najnowszego piśmiennictwa w badanym obszarze wiedzy. Doktorant cytuje liczne prace dotyczące wpływu białka BAF250 a w hamowaniu i zatrzymaniu cyklu komórkowego w fazie G0 i G1 . Uzyskane przez autora wyniki są odmienne w stosunku do wcześniejszych doniesień innych autorów opisujących obniżenie ekspresji białka BAF250 a w rakach piersi. Autor tłumaczy dwojakim mechanizmem oddziaływania tego białka zarówno rolą inicjującą jak i funkcją supresorową hamującą dalszy rozwój komórek w guzie . W tekście użyto omyłkowo stwierdzenia *..hamującą dalszy rozwój nowotworów w guzie*.

Praca zakończona jest 3 nie wyodrębnionymi numerycznie wnioskami wynikającymi z uzyskanych wyników . Wnioski przedstawione są w sposób jasny, będąc w pełni odpowiedzią na postawione cele pracy z wyjątkiem braku danych dotyczących stanu receptorów hormonalnych ER i PR w analizowanych wycinkach raka piersi. Zamiast sformułowania *zdrowych próbek kontrolnych* proponuje użyć sformułowania wycinków piersi nowotworowo niezmiennych . Końcowy komentarz będący fragmentem dyskusji z cytowaną pozycją Sun i wsp. proponuję skrócić do stwierdzenia : Uzyskane w przeprowadzonych badaniach własnych inne wartości ekspresji ARID1A w wycinkach raka piersi w porównaniu z doniesieniami innych autorów wskazują na konieczność podjęcia dalszych badań w tym zakresie. W spisie piśmiennictwa należy uzupełnić w pozycji nr.2 rok wydania.

Pracę oceniam pozytywnie, a wzmiankowane uwagi nie wpływają na jakość merytoryczną rozprawy. Praca ma cechy dobrze zaplanowanego oryginalnego projektu badawczego a jej wyniki wskazują na potrzebę podjęcia dalszych poszukiwań w zakresie interpretacji i znaczenia prognostycznego białka ARID1A u

chorych na raka piersi . W mojej ocenie przedstawiona praca stanowi samodzielny dorobek naukowy a jej autor wykazał nie tylko wiedzę w przedstawianym temacie, ale także udowodnił umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Tym samym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. do dalszych Łukasza Szpona do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A. Gabriel