



UNIwersYTET MEDYczNY IM. KAROLA
MARCINKOWSKIEGO W POZNAŃU
KATEDRA I ZAKŁAD HISTOLOGII I EMBRIOLOGII
KATEDRA I ZAKŁAD ANATOMII PRAWIDŁOWEJ

ul. Święcickiego 6
60-781 Poznań

tel. 061 854 65 64

fax 061 854 65 68

e-mail: bkempisty@ump.edu.pl

Przewodniczący Rady Dyscypliny

Nauki Medyczne

Prof. dr hab. Grzegorz Mazur

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich

we Wrocławiu

Dr hab. n. med. Bartosz Kempisty

**Katedra i Zakład Anatomii
Prawidłowej**

**Katedra i Zakład Histologii i
Embriologii**

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Rusak

Zachorowania na nowotwory stanowią jedną z głównych przyczyn zgonów na całym świecie. Największą zachorowalność odnotowuje się każdego roku w krajach wysoko rozwiniętych i rozwijających się. Za główną przyczynę indukcji procesu nowotworowego uważa się (1) uwarunkowania genetyczne oraz (2) niesprzyjające czynniki środowiskowe. Wśród uwarunkowań genetycznych za najważniejsze przyjmuje się mutacje w genach indukujących rozwój danego typu nowotworu, tj. mutacje w genach BRCA1 i BRCA2, nadekspresję genów związanych z proliferacją i migracją komórek oraz indukowaną ekspresję genów regulujących proces angiogenezy. Do czynników środowiskowych wpływających na indukcję oraz rozwój nowotworów należą; niewłaściwa dieta połączona z nadwagą, stosowanie używek, stosowanie antykoncepcji czy hormonalnej terapii zastępczej. W ostatnim czasie onkolodzy zwracają uwagę na substancje rakotwórcze zawarte w produktach spożywczych, przetworach, kosmetykach oraz plastikowych pojemnikach. Rak gruczołu piersiowego stanowi drugą, po raku płuc, przyczynę zgonów kobiet w Polsce. Dane epidemiologiczne Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2018 roku wskazują na ponad 20,000 nowych zachorowań na ten typ nowotworu w naszym kraju.

Wymieniany wcześniej proces angiogenezy jest jednym z głównych czynników warunkujących wzrost i rozwój nowotworu. Indukcja angiogenezy oraz związana z tym procesem proliferacja i migracja komórek jest jednym z głównych wyznaczników określających zdolność nowotworu do przerzutowania. Z uwagi na fakt, iż nowopowstające naczynia krwionośne warunkują transport substancji odżywczych oraz tlenu, sugeruje się, iż właśnie angiogeneza jest tym procesem, który w największym stopniu warunkuje progresję guza. Potwierdzeniem istotnej roli angiogenezy z procesie nowotworzenia jest podejmowanie prób celowanej terapii personalizowanej, której celem byłoby ograniczenie tworzenia nowych sieci naczyń krwionośnych i tym samym ograniczenie i/lub wykluczenie wzrostu guza i zdolności do przerzutowania.

Z uwagi na dane przedstawione powyżej uważam, że zagadnienie indukcji angiogenezy w nowotworach, obok terapii spersonalizowanych, jest tematem bardzo aktualnym i wiodącym we współczesnej onkologii eksperymentalnej. Tym samym uważam temat badań podjęty przez doktorantkę w rozprawie doktorskiej za niezwykle interesujący i ważny nie tylko z punktu widzenia wartości naukowej, jaką z sobą niesie, ale przede wszystkim wartości poznawczej, która jest wręcz nieoceniona w rozumieniu badań przedklinicznych i klinicznych podczas codziennego wzmaganiania się lekarzy w walce z chorobami nowotworowymi na całym świecie.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Rusak została wykonana w Zakładzie Histologii i Embriologii, Katedry Morfologii i Embriologii Człowieka Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Promotorem pracy doktorskiej jest Pan Prof. dr hab. Piotr Dziegiel. Chciałbym w tym miejscu podkreślić, iż czuję się wyróżniony móc oceniać tą pracę, gdyż uważam, że wywodzi się ona z jednego najlepszych, najaktywniejszych i wiodących zespołów histologicznych zarówno w kraju, jak i zagranicą. Zespół kierowany przez Pana Prof. Piotra Dziegla był i jest dla mnie wzorem godnym naśladowania. Dlatego też mogąc recenzować tą rozprawę staję się częścią zacnego grona naukowców z dobrymi tradycjami.

Praca doktorska mgr Agnieszki Rusak obejmuje 83 strony maszynopisu, w którego skład wchodzi: (1) wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, (2) wstęp, opatrzony piśmiennictwem, (3) założenia i cel pracy, (4) streszczenie w języku polskim, (5) streszczenie w języku angielskim, oraz (6) wydruk publikacji składających się na cykl rozprawy. Cykl publikacji obejmuje 3 artykuły, z których jeden jest artykułem przeglądowym (opublikowanym w Post. Hig. Med. Dośw., w 2016 roku), oraz dwa artykuły oryginalne opublikowane w czasopiśmie Anticancer Research, odpowiednio w 2018 i 2019 roku. We wszystkich publikacjach doktorantka jest pierwszym autorem.

Tematem rozprawy, na który składa się cykl publikacji było badanie ekspresji mRNA oraz białka YKL-40 w aspekcie procesu angiogenezy w rakach gruczołu piersiowego. Celem przeprowadzonych i opublikowanych wyników była analiza wzrostu ekspresji białka YKL-40 oraz korelacja pomiędzy tą ekspresją a wybranymi białkami uznanymi za markery angiogenezy, jak; VEGFA, VEGFC, VEGFD, CD31, CD34 oraz białek Nogo-A, Nogo-A/B i NgBR jako czynników regulujących apoptozę, migrację komórek śródbłonna, oraz przejście epitelialno-mezenchymalne.

W pierwszym artykule przeglądowym, doktorantka omawia rolę białka YKL-40 w procesie nowotworzenia. W publikacji tej autorka opisuje (1) strukturę genu i białka YKL-40, (2) funkcje YKL-40, (3) rolę białka YKL-40 w schorzeniach o różnej etiologii, (4) podłoże stanu zapalnego, (5) mechanizm syntezy białka YKL-40 w komórkach nowotworowych, (6) oraz rolę białka w procesie angiogenezy w wybranych typach nowotworów, tj; (a) rak gruczołu piersiowego, (b) rak płuc, (c) rak jajnika, (d) czerniak, i (e) rak jelita grubego. Ponadto w artykule doktorantka omawia terapię monoklonalną, która stanowi niezwykle interesujące zagadnienie zarówno z punktu widzenia badań podstawowych, jak i terapii przeciwnowotworowej. Autorka podsumowuje ten artykuł ważnym stwierdzeniem, cytując: „...podwyższone stężenie YKL-40 jest niezależnym czynnikiem prognostycznym tzw. złego rokowania: krótkiego czasu przeżycia oraz przerzutowania w różnych typach nowotworów złośliwych człowieka”. Podsumowując ocenę chciałbym zwrócić uwagę, że artykuł napisany jest na wysokim poziomie naukowym, jest opatrzony trzema tematycznymi rycinami. Jednakże uważam, że artykuł ten, ze względu na podejmowaną tematykę, winien być napisany w języku angielskim, wówczas mógłby zostać opublikowany w czasopiśmie o wyższym wskaźniku oddziaływania (IF).

W pierwszym artykule oryginalnym, posługując się techniką RT-qPCR, metodą immunohistochemiczną oraz Western-blot, doktorantka analizowała ekspresję mRNA oraz białek; YKL-40, CD31, CD34, VEGFA, VEGFC, VEGFD, Ki-67, ER, PR, HER2, Nogo-A, Nogo-A/B oraz NgBR. Materiał do badań stanowiło 110 inwazyjnych przewodowych raków gruczołu piersiowego oraz 25 łagodnych dysplazji. Analizując zarówno ekspresję zarówno na poziomie mRNA, jak i białka, doktorantka wysunęła wniosek o potencjalnej istotnej roli białka YKL-40 w progresji nowotworu. Nie

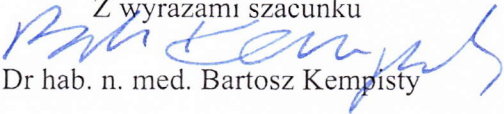
wykazała natomiast związku pomiędzy ekspresją tego białka, analizowanego metodą immunohistochemiczną a całkowitym czasem przeżycia pacjentek i czasem wolnym od choroby.

W drugiej publikacji oryginalnej doktorantka analizowała ekspresję i dystrybucję białek; YKL-40, Nogo-A, Nogo-A/B, NgBR, VEGFA, VEGFC, VEGFD, ER, PR, HER2 oraz Ki-67, na preparatach parafinowych pobranych z 77 inwazyjnych przewodowych raków gruczołu piersiowego oraz 22 przypadków łagodnych dysplazji. Obserwacje pochodzące z wyników reakcji immunohistochemicznych wskazują na cytoplazmatyczną dystrybucję białek YKL-40, Nogo-A, Nogo-A/B, NgBR, VEGFA, VEGFC, VEGFD w inwazyjnych przewodowych raków gruczołu piersiowego. Podwyższony poziom ekspresji białka YKL-40 obserwowano w 30% przypadków analizowanych nowotworów. Ponadto doktorantka wykazała istotną korelację pomiędzy ekspresją analizowanych białek markerowych, głównie YKL-40 oraz Nogo-A/B. Autorka wysunęła wniosek o potencjalnym znaczeniu rokowniczym i diagnostycznym wymienionych wyżej białek w aspekcie angiogenezy w inwazyjnych przewodowych raków gruczołu piersiowego.

Podsumowując ocenę przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej chciałbym podkreślić, iż doktorantka pochyliła się nad niezwykle istotnym zagadnieniem badawczym, jakim bez wątpienia jest poszukiwanie nowych markerów prognostycznych dla rozwoju guza i zdolności do przerzutowania. Pragnę wyrazić nadzieję, że badania przeprowadzone przez doktorantkę staną się w niedalekiej przyszłości podstawą do opracowania nowych procedur postępowania w spersonalizowanej terapii przeciwnowotworowej.

Uwzględniając znaczenie badań przeprowadzonych przez doktorantkę oraz poziom przeprowadzonych analiz wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z wnioskiem o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Rusak oraz kontynuowanie procedur związanych z nadaniem Pani Agnieszce Rusak stopnia doktora nauk medycznych.

Ponadto oświadczam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.)

Z wyrazami szacunku

Dr hab. n. med. Bartosz Kempisty