

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. med. Pawła Gajdzisa

pt.: „Ekspresja białka supresorowego PTEN w zależności od podtypu molekularnego raka piersi w guzach pierwotnych i odpowiadających im przerzutach do węzłów chłonnych”.

Rak piersi jest najczęstszym nowotworem złośliwym kobiet i drugą przyczyną zgonów (po raku płuca) z powodu nowotworów złośliwych w krajach zachodnich i Polsce. Aktualnie prowadzone są wielokierunkowe badania dotyczące biologii raka piersi, których celem nadrzędnym jest poprawa wyników leczenia.

W wyniku badań ekspresji genów w mikromacierzach DNA wyodrębniono podtypy raka piersi wykazując, że stanowią one zarówno biologicznie jak i klinicznie odrębne jednostki, różniące się przebiegiem klinicznym jak i odpowiedzią na leczenie. Obecnie, zgodnie z zaleceniami z St. Gallen oznacza się ekspresję ER, PgR i Ki-67 oraz nadekspresję HER-2, lub amplifikację *HER-2*, wyróżniając cztery podtypy raka piersi. Z piśmiennictwa wiadomo, że możliwa jest jednak zmiana ekspresji biomarkerów w przerzutach nowotworowych w porównaniu z guzem pierwotnym, w którym rutynowo są one oznaczane przed podjęciem leczenia. Wiąże się to z istotnymi następstwami w postaci zmiany rokowania i możliwym brakiem odpowiedzi na leczenie.

PTEN jest białkiem supresorowym produkowanym przez prawidłowe komórki, kodowanym przez gen *PTEN*. Utrata funkcji białka PTEN występuje w niemal połowie przypadków raka piersi, szczególnie w podtypach związanych z gorszym rokowaniem. Brak ekspresji tego białka może stanowić podstawę leczenia celowanego.

Dlatego badania lek. Pawła Gajdzisa, których celem było porównanie ekspresji PTEN w rakach piersi i odpowiadających im przerzutach do węzłów chłonnych oraz analiza zależności między ekspresją PTEN i podtypem molekularnym, a także ocena zmiany podtypu molekularnego oraz ekspresji ER, PgR i HER-2 w przerzutach do węzłów w porównaniu do guza pierwotnego, dobrze się wpisują w poruszane wyżej problemy. Należy podkreślić, że w

dotychczasowym piśmiennictwie światowym brak jest analiz dotyczących zmiany ekspresji PTEN w regionalnych węzłach chłonnych w porównaniu z guzem pierwotnym.

Temat pracy lek. Pawła Gajdzisa uważa m więc za trafnie dobrany, oryginalny i bardzo aktualny.

1. Ocena formalna

Rozprawa doktorska lek. Pawła Gajdzisa została wykonana w oparciu o starannie zebrany materiał badawczy pod kierunkiem dr hab. n. med. Jerzego Klijanienki, przy współpracy jako kopromotora prof. dr hab. n. med. Michała Jelenia - badaczy doświadczonych, będących gwarantem rzetelności i wysokiej jakości wykonywanych badań.

Przedstawiona do oceny praca obejmująca 91 stron, jest bardzo staranną edycją komputerową o układzie typowym dla prac doktorskich. Praca zawiera bogaty materiał dokumentacyjny, na który składa się 13 czytelnych tabel i 13 przejrzystych rycin, a także 12 mikrofotografii doskonale obrazujących wyniki ekspresji badanych biomarkerów. Napisana jest bardzo ładnym stylem.

2. Ocena merytoryczna

A. Znajomość źródeł wiedzy

Piśmiennictwo aktualne, obejmuje 141 pozycji do roku 2017 włącznie, jest dobrze dobrane i umiejętnie wykorzystane w tekście. Autor swobodnie porusza się po trudnych i skomplikowanych zagadnieniach szczególnie z zakresu biologii molekularnej, co świadczy o dobrej znajomości cytowanej literatury.

B. Poprawność wprowadzania celów badawczych na podstawie przesłanek naukowych.

Wstęp pracy, mający wszelkie zalety wnikliwej pracy pogłądowej, jest dobrym wprowadzeniem umożliwiającym poznanie założeń badawczych Autora. Rozdział ten podzielony został na podrozdziały, w których przedstawiono zarówno problemy związane z klasyfikacjami patomorfologicznymi i molekularnymi raka piersi, jak i klasyfikacjami klinicznymi wraz z problemami dotyczącymi współczesnej terapii tego raka. Szczególnie dużo uwagi poświęcił Autor roli PTEN w procesie karcinogenezy. Omówienie literatury jest bardzo szerokie, konsekwentnie wprowadza w tematykę pracy i umożliwia poszerzenie wiedzy koniecznej do prześledzenia dalszych jej etapów. Autor wytyczył sobie cele badawcze, których wybór bardzo dobrze uzasadnił w podrozdziale „Założenia pracy”. Znajdują one pełne uzasadnienie w piśmiennictwie naukowym i wiążą się z oczekiwaniami klinicznymi.

C. Poprawność wyboru grupy badawczej

Badania zostały wykonane w materiale pochodzącym z archiwum Zakładu Patologii Instytutu Curie w Paryżu od 84 pacjentek. Był to materiał tkankowy z biopsji gruboigłowej raków piersi i materiał uzyskany z biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej podejrzanych węzłów chłonnych jamy pachowej tych samych pacjentek. Ostatecznie do badania zakwalifikowano 76 pacjentek. Cechy kliniczno-patologiczne badanej

grupy pacjentek: wiek, typ histologiczny raka piersi i podtypy molekularne oraz status ER PgR, HER-2 guzów pierwotnych i odpowiadających im węzłów chłonnych, a także stopień zaawansowania klinicznego choroby wg AJCC, Autor przedstawił w formie przejrzystych tabel.

D. Adekwatność zastosowanych technik badawczych w stosunku do zakładanych celów.

Badania zostały przeprowadzone w Zakładzie Patologii Instytutu Curie w Paryżu pod kierunkiem dr hab. n. med. Jerzego Klijanienki. Z materiału uzyskanego z nakłucia węzłów chłonnych wykonywano cytobloki, co miało istotne znaczenie dla przeprowadzenia wiarygodnych badań porównawczych w materiale z guza pierwotnego i przerzutu do węzła chłonnego. Dzięki starannemu i dobrze przemyślanemu doborowi materiału badawczego, w którym można było przeprowadzić oprócz barwień rutynowych, szereg badań immunohistochemicznych (ER, PgR, HER-2 i PTEN) uzyskano wiarygodne i bardzo interesujące wyniki. Należy podkreślić także krytyczne i odpowiedzialne podejście Doktoranta do oceny ekspresji Ki-67, która w skąnym materiale biopsyjnym ma małą wiarygodność. Do rozróżnienia podtypów luminalnych raka piersi zamiast ekspresji Ki-67 zastosował ocenę stopnia zróżnicowania raka, w tym indeks mitotyczny. Na uwagę zasługuje precyzyjny sposób oceny ekspresji PTEN w guzach pierwotnych i odpowiadających im przerzutach w węzłach chłonnych. Autor dokonał tej oceny osobno dla lokalizacji jądrowej i cytoplazmatycznej, posługując się skalą H-Score, która umożliwia ocenę zarówno odsetka komórek z dodatnią reakcją jak i ocenę intensywności reakcji immunohistochemicznej. Takie podejście do oceny ekspresji PTEN wynika z przesłanki, że PTEN pełni różne funkcje w zależności od lokalizacji cytoplazmatycznej i jądrowej. W dostępnych publikacjach zazwyczaj nie uwzględniano oceny ekspresji PTEN w odniesieniu do lokalizacji w komórce.

Do analizy statystycznej zastosowane zostały odpowiednie testy, które umożliwiły obiektywną ocenę uzyskanych wyników badań.

E. Realizacja celów badawczych zawarta we wnioskach.

Wszystkie wytyczone cele badawcze zostały w pełni zrealizowane. Na podstawie przeprowadzonych badań Autor sformułował 6 interesujących wniosków, które zaopatrzył w krótkie komentarze, podkreślające ich znaczenie poznawcze i praktyczne. Sadzę, że do najważniejszych należą: 1) W rakach piersi ekspresja PTEN jest niższa w przerzutach do węzłów chłonnych niż w guzach pierwotnych, a najniższa w guzach o podtypie potrójnie ujemnym, co może wskazywać na skuteczność ewentualnego leczenia celowanego ukierunkowanego na nowotwory z utratą PTEN u chorych z zaawansowaną i gorzej rokującą chorobą. 2) Największe różnice między ekspresją PTEN w przerzutach do węzłów chłonnych w porównaniu z guzami pierwotnymi wystąpiły w guzach o podtypie luminalnym B, co może być jednym z mechanizmów odpowiadających za ewentualną nabytą oporność na hormonoterapię w miarę postępu choroby. Dlatego uzasadnione jest zalecenie, aby immunofenotyp

raka piersi oceniać nie tylko w guzach pierwotnych, ale także przerzutach, co umożliwia optymalizację leczenia. 3) Guzy ER- wykazują niższą ekspresję PTEN w lokalizacji jądrowej i cytoplazmatycznej w porównaniu z guzami ER+. Zaś guzy z nadekspresją/amplifikacją HER-2 charakteryzują się wyższą ekspresją PTEN niż guzy bez nadekspresji/amplifikacji HER-2 tylko w lokalizacji jądrowej. Wyniki te potwierdzają istotną rolę ER w patogenezie raka piersi oraz prawdopodobnie ważną rolę jądrowej lokalizacji PTEN w guzach z nadekspresją/amplifikacją HER-2.

3. Wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że oceniana przez mnie praca stanowi wzorowy przykład dobrze zaplanowanego i przeprowadzonego badania naukowego i dowodzi dojrzałości naukowej Doktoranta. Jest bardzo interesującą, oryginalną i wartościową pozycją o walorach poznawczych i praktycznych.

Dlatego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że praca lek. med. Pawła Gajdzisa pt.: „Ekspresja białka supresorowego PTEN w zależności od podtypu molekularnego raka piersi w guzach pierwotnych i odpowiadających im przerzutach do węzłów chłonnych” spełnia wszelkie wymogi ustawowe stawiane pracom na stopień doktora nauk medycznych i zasługuje na specjalne wyróżnienie *summa cum laude*. Wnoszę więc do Wysokiej Rady Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. med. Pawła Gajdzisa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Wyniki. Ekspresja PTEN w przerzutach do węzłów chłonnych była istotnie niższa niż w guzach pierwotnych zarówno w lokalizacji cytoplazmatycznej ($p < 0,001$) i jądrowej ($p < 0,001$). Do największych zmian doszło w przypadku raków o podtypie luminalnym B ($p = 0,006$ dla lokalizacji cytoplazmatycznej i $p = 0,017$ dla lokalizacji jądrowej), natomiast zmian nie zaobserwowano w przypadku raków o podtypie HER-2 dodatnim.

Najniższa ekspresja PTEN występowała w podtypie potrójnie ujemnym. Najwyższa cytoplazmatyczna ekspresja PTEN obserwowana była w podtypach luminalnych ($p = 0,037$). Najwyższa jądrowa ekspresja PTEN występowała w podtypie HER-2 dodatnim, jednak różnica w stosunku do pozostałych podtypów nie była statystycznie istotna ($p = 0,073$).

Cytoplazmatyczna i jądrowa ekspresja PTEN była dodatnio skorelowana z ekspresją ER ($p = 0,046$ dla lokalizacji cytoplazmatycznej i $p = 0,006$ dla lokalizacji jądrowej), z kolei dodatnią korelację z ekspresją HER-2 zauważono tylko dla ekspresji PTEN w lokalizacji jądrowej ($p = 0,006$).

Porównując immunofenotyp guzów pierwotnych z przerzutami do węzłów chłonnych zauważono istotną statystycznie utratę ekspresji ER ($p = 0,026$), utratę ekspresji PgR na granicy istotności statystycznej ($p = 0,056$) oraz w 5 przypadkach zmianę ekspresji HER-2 bez istotnej statystycznie asymetrii zmian. Do zmian podtypu molekularnego doszło w 12 przypadkach (15,8%), istotnie statystycznie częściej z podtypów luminalnych w kierunku nieluminalnych niż odwrotnie ($p = 0,044$).

Wnioski. Ekspresja PTEN w rakach piersi jest niższa w przerzutach do węzłów chłonnych niż w guzach pierwotnych oraz wykazuje istotne różnice w zależności od podtypu molekularnego raka. Wyniki badania pokazują, iż ocena ekspresji PTEN może być istotna dla lepszego zrozumienia biologii raka piersi oraz pomocna przy tworzeniu nowych schematów leczenia w przyszłości. Ponadto w celu optymalizacji terapii kluczowa jest ocena immunofenotypu raka piersi także w przerzutach do węzłów chłonnych.



UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Lek. Paweł Gajdzis

Zakład Patomorfologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny we Wrocławiu

Tytuł rozprawy doktorskiej: Ekspresja białka supresorowego PTEN w zależności od podtypu molekularnego raka piersi w guzach pierwotnych i odpowiadających im przerzutach w węzłach chłonnych

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Dr hab. n. med. Jerzy Klijanienko – Zakład Patologii, Instytut Curie w Paryżu

Kopromotor: Prof. dr hab. n. med. Michał Jeleń – Katedra i Zakład Patomorfologii i Cytologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Recenzenci:

Prof. dr hab. n. med. Maria Chosia – Katedra i Zakład Patomorfologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Gabriel – Katedra i Zakład Patomorfologii w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wrocław, dnia 23.02.2018

Data i miejsce urodzenia: 23.06.1984, Nowa Sól

Wyszkolenie:

2003-2009 Wydział Lekarski, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
1999-2003 Liceum Ogólnokształcące im. K. K. Baczyńskiego w Nowej Soli

Przebieg pracy zawodowej:

04.2012-do chwili Zakład Patomorfologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu, lekarz obecnej
05.2015-do chwili Zakład Patomorfologii „Hist-Med” we Wrocławiu, lekarz obecnej
05.2015-08.2016 Ośrodek Medycyny Paliatywnej i Hospicyjnej w Będkowie, lekarz
05.2012-04.2015 Hospicjum Domowe Szpitala Specjalistycznego w Środzie Śląskiej, lekarz
03.2011-04.2012 Oddział Chorób Wewnętrznych Szpitala Specjalistycznego w Środzie Śląskiej, lekarz
12.2010-03.2011 Klinika Hematologii Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 1 we Wrocławiu, lekarz
10.2009-11.2010 Staż poddyplomowy, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 1 we Wrocławiu, lekarz stażysta

Dorobek naukowy:

- 3 pełnotekstowe publikacje naukowe w recenzowanych czasopiśmie
- 7 doniesień na konferencjach krajowych

STRESZCZENIE

Wstęp. PTEN jest białkiem supresorowym, występującym w cytoplazmie i w jądrze komórkowym. Główną jego funkcją w cytoplazmie jest hamowanie szlaku PI3K/AKT, natomiast w jądrze odpowiada między innymi za hamowanie cyklu komórkowego. Utratę białka PTEN obserwuje się prawie w połowie przypadków raka piersi. Brak ekspresji PTEN może skutkować niepowodzeniem leczenia oraz może stanowić podstawę leczenia celowanego w przyszłości.

Cel. Celem badania było porównanie ekspresji PTEN w lokalizacji cytoplazmatycznej i jądrowej w guzach pierwotnych raków piersi i odpowiadających im przerzutach do węzłów chłonnych oraz analiza zależności między ekspresją PTEN i podtypem molekularnym. Ponadto oceniano zmianę podtypu molekularnego oraz ekspresji ER, Pgr i HER-2 w przerzutach do węzłów chłonnych w porównaniu do guza pierwotnego.

Materiał i metody. Badaniem objęto 86 uprzednio nieleczonych pacjentek, u których jednoczasowo wykonano biopsję gruboigłową pierwotnego guza piersi oraz biopsję cienkoigłową pachowego węzła chłonnego z przerzutem raka. Ekspresję PTEN, ER, Pgr i HER-2 oceniano metodą immunohistochemiczną na skrawkach parafinowych. Oceny podtypów molekularnych dokonano według klasyfikacji z St Gallen.