

Katowice, 30.11.2014

Prof. dr hab. n. med. Ryszard Wiaderkiewicz
Katedra Histologii i Embriologii
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Ul. Medyków 18, 40-752 Katowice

Tel.: +48 2088363; Fax: +48 2526574

Email: wiader@sum.edu.pl

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. Christophera Kobierzyckiego pt. „ Zastosowanie techniki mikromacierzy tkankowych w poszukiwaniu nowych markerów nowotworowych w rakach gruczołu piersiowego”

Rozwój procesu nowotworowego nieodwołalnie wiąże się ze zmianą ekspresji białek biorących udział w różnych procesach komórkowych. Najczęściej, choć nie tylko, są to białka biorące udział w regulacji cyklu komórkowego. Oznaczanie profilu ekspresji tych białek pozwala nam nie tylko potwierdzić fakt zaistnienia transformacji nowotworowej, ale często także pozwala na oznaczenie stopnia zaawansowania procesu nowotworowego. Dlatego też badania zmierzające do ustalenia czy i w jakim stopniu ekspresja danego białka może być markerem, tzn. korelować z rozwojem danego nowotworu, są niezmiernie istotne i to zarówno z czysto naukowego punktu widzenia (poznanie mechanizmu procesu nowotworowego) jak i w aspekcie klinicznym (terapia, prognozowanie).

W przedstawionej mi do oceny rozprawie doktorskiej autor postanowił zbadać w jakim stopniu ekspresja w komórkach raka gruczołu piersiowego białka MCM-2 (*minichromosome maintenance 2*), a także SATB1 (*Special AT-rich sequence binding protein 1*) koreluje z danymi kliniczno-patologicznymi, a tym samym czy mają one potencjalne znaczenie rokownicze. To co niewątpliwie należy uznać za element nowatorski, a więc niezbędny w każdej pracy doktorskiej, jest wykonanie przez autora badań eksperymentalnych z wykorzystaniem techniki mikromacierzy tkankowych co, niezależnie od uzyskanych wyników, zwraca uwagę na możliwości i potencjalne wykorzystanie tej metody zarówno w badaniach podstawowych jak i w diagnostyce.

Badaniom poddano łącznie (?) 51 przypadków inwazyjnych raków przewodowych gruczołu piersiowego. Bloczki mikromacierzy (TMA) zostały przygotowane z użyciem

manualnego aparatu do przygotowania TMA (średnica igły 0.6 mm). Materiał wyjściowy stanowiły bloczki parafinowe pochodzące z archiwów Zakładu Patomorfologii Dolnośląskiego Centrum Onkologii we Wrocławiu. Na skrawkach TMA jak i wyjściowych skrawkach parafinowych przeprowadzono reakcje immunohistochemiczne z zastosowaniem przeciwciał specyficznych zarówno dla SATB1 i MCM-2 jak i powszechnie stosowanego markera procesu proliferacji – Ki67 oraz receptorom: estrogenowemu (ER) i progesteronowemu (PR), a więc powszechnie akceptowalnym czynnikiem prognostycznym i predykcyjnym w rakach gruczołu piersiowego. Otrzymane wyniki zostały opublikowane w 2 pracach eksperymentalnych będących integralną częścią przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej. Przygotowana ona została w formie spójnego tematycznie zbioru 3 artykułów naukowych wraz z ich opisem w języku polskim i angielskim co spełnia wymogi znowelizowanej ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (art.13, ust. 2 i 6 ustawy). Wszystkie załączone prace opublikowane zostały w czasopismach naukowych z listy filadelfijskiej, tak więc zostały już wcześniej rzetelnie i pozytywnie zrecenzowane. Pierwsza z załączonych prac (Postępy Biologii Komórki, 2012, IF 0.087) to praca przeglądowa napisana w języku polskim, w której autor przedstawia możliwości wykonania i oceny mikromacierzy tkankowych, zalety i wady ich stosowania oraz wyniki niektórych badań wykorzystujących technikę TMA.

Kolejne dwie publikacje przedstawiają wyniki własnych badań eksperymentalnych z zastosowaniem opisanej wcześniej techniki mikromacierzy tkankowych. W pierwszej z nich (Anticancer Research, 2012, IF 1.713) doktorant podjął próbę wykorzystania powyższej metody do oceny aktywności proliferacyjnej komórek inwazyjnego raka przewodowego gruczołu piersiowego. Wykazał, że białko MCM-2 silnie koreluje z ekspresją powszechnie stosowanego antygenu Ki-67, a więc może być wykorzystane jako czuły marker proliferacji – zwłaszcza, że jego ekspresja (podobnie jak Ki-67) wzrasta wraz ze stopniem złośliwości histologicznej. Co ważne, porównanie ekspresji w/w białek oznaczonych na klasycznych pojedynczych skrawkach oraz techniką TMA potwierdziło wiarygodność wyników otrzymanych metodą mikromacierzy tkankowych. W kolejnej publikacji (Folia Histochem. Cytobiol., 2013, IF 1.0) autor zastosował metodę mikromacierzy tkankowych do oceny ekspresji białka SATB1 w bioptatach tkankowych inwazyjnego raka przewodowego gruczołu piersiowego (IDC). Wykazał, że ekspresja SATB1 koreluje z markerem proliferacji Ki-67 zarówno w odniesieniu do wszystkich nowotworów (bez względu na status receptorowy – ER, PR) jak również w grupie guzów estrogeno-negatywnych. O ile jednak ekspresja antygenu Ki-67 korelowała wyraźnie dodatnio ze stopniem złośliwości nowotworu to w przypadku SATB1 niewielki wzrost jego ekspresji nie korelował znamienne statystycznie ze wzrostem skali G, co wskazuje na ograniczoną możliwość jego

wykorzystania jako markera agresywności procesu nowotworowego w diagnostyce przewodowego inwazyjnego raka gruczołu piersiowego.

Pod względem edytorskim przedstawiona mi do oceny dysertacja przygotowana została bardzo starannie w sposób typowy dla tego typu opracowań. Zawiera wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej, wstęp, cel pracy, streszczenie w języku polskim i angielskim, trzy publikacje naukowe oraz podsumowanie i wnioski. Pracę uzupełniają załączniki: opinia odpowiedniej Komisji Bioetycznej, wykaz dorobku naukowego, a przede wszystkim oświadczenia współautorów publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej, które potwierdzają, że lek. Christopher Kobierzycki odegrał kluczową rolę na wszystkich etapach ich powstawania. Wstęp jest bardzo zwięzły, wręcz lakoniczny. Jego zawartość merytoryczna bardziej odpowiada uzasadnieniu podjęcia tematu pracy. Technika TMA opisana jest szczegółowo w załączonej pracy przeglądowej, brakowało mi jednak we wstępie nieco szerszego wyjaśnienia dlaczego właśnie te, a nie inne markery zostały wybrane do analizy. W streszczeniu autor podaje, że badania przeprowadzono na archiwalnym materiale 51 przypadków inwazyjnego przewodowego raka gruczołu piersiowego, podczas gdy w pracy opublikowanej w *Folia Histochemica et Cytobiologica* (51,2013) badania dotyczyły 48 przypadków. Ilość przypadków w poszczególnych stopniach zaawansowania G1-G3 sugeruje, że badania prowadzono na tych samych blockach co w publikacji w *Anticancer Research* (32,2012). Jeśli tak to należałoby to wyraźnie podkreślić w tekście gdyż tylko wówczas uzasadnia to przedstawione w pracy podsumowanie wyników i wyciągnięte wnioski.

Cztery wnioski końcowe świadczą, że zgodnie z zasadami rozpraw doktorskich autor osiągnął założone cele pracy. Dwa pierwsze wnioski są dość ostrożne, i słusznie mając na względzie ograniczoną liczbę przypadków poddanych analizie. Uważam również, że o ile stosowanie techniki TMA w badaniach podstawowych (poszukiwanie markerów) ma uzasadnienie i głęboki sens to jednak na sugerowane we wniosku 4-tym jej zastosowanie w praktyce kliniczno-patologicznej to jeszcze chyba zbyt wcześnie.

Podsumowując, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska przygotowana została w nowym trybie w oparciu o 3 spójne tematycznie artykuły naukowe. Poszerzają one naszą wiedzę odnośnie możliwości zastosowania techniki mikromacierzy tkankowych w poszukiwaniu specyficznych markerów raka gruczołu piersiowego co niewątpliwie może się przyczynić do ich precyzyjniejszej diagnostyki i rokowania. Autor dowiódł, że jest dojrzałym pracownikiem naukowym, który nie tylko potrafi właściwie planować i przeprowadzać eksperymenty naukowe, ale co najważniejsze wyciągać właściwe wnioski na podstawie rzetelnej, popartej odpowiednimi narzędziami statystycznymi, analizy wyników .

Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska w pełni spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i z pełnym przekonaniem wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Christophera Kobierzyckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK

Katedry Histologii i Embriologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Ryszard Wiaderkiewicz