



Poznań, dnia 17.11.2021 r.

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Anny Nagiel pt.:
„Wpływ mikrośrodowiska guza na komórki nowotworowe raka piersi
w kontekście zmian w obrębie receptora estrogenowego”
w związku z powierzeniem obowiązku recenzenta
przez Radę Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Gdańskiego.

1. Znaczenie podjętych badań

Praca dotyczy bardzo ważnego i niestety ciągle aktualnego problemu diagnostyki i terapii raka piersi u kobiet. Częstość występowania tej choroby w populacji polskiej ale i światowej stanowi doskonale uzasadnienie dla podjęcia tego tematu. Zwłaszcza, że, jak się wydaje, jedynym skutecznym podejściem do problemu raka piersi jest wczesna diagnostyka. Nie jest to jednak możliwe bez dobrego poznania metabolizmu komórek nowotworowych, które wywodzą się z komórek danego pacjenta; w konsekwencji są więc do nich bardzo podobne. Wydaje się, że kierunek badań zaproponowany przez doktorantkę ma szansę wnieść istotne elementy wiedzy w zakresie poznania patogenezy nowotworu i poszerzyć nasze horyzonty diagnostyczne. Bardzo istotny element pracy stanowi fakt wsparcia przez bardzo merytoryczny i doświadczony zespół Pani Promotor (Prof. dr hab. Anna Żaczek) oraz promotora pomocniczego (dr Aleksandra Markiewicz). Utworzenie takiego zespołu, z solidnymi tradycjami naukowymi, pozwoliło na przeprowadzenie zaawansowanych i nowoczesnych badań oraz wysnuć konstruktywnych wniosków. Nie bez znaczenia jest fakt, że część wyników została już przez doktorantkę opublikowana w recenzowanych czasopismach z listy JCR o wysokim współczynniku oddziaływania IF. W dwóch pracach doktorantka jest pierwszym autorem.

2. Ocena pracy

Ocena merytoryczna

Pracę stanowi manuskrypt zawierający się na 95 stronach. Rozprawę rozpoczyna przejrzysty spis treści oraz dwa streszczenia, odpowiednio w języku angielskim i polskim o dobrej strukturze i spełniające swoją rolę. Do strony 31 czytelnik ma możliwość poznania uzasadnienia zakresu podjętych badań, które jest lapidarne ale kompletne. Wstęp zawiera informacje dotyczące aspektów anatomii, patogenezы nowotworów oraz ich epidemiologii z uwzględnieniem wątku diagnostycznego, opartego o charakterystykę molekularną. Przytaczane dane poparte są adekwatnymi cytowaniami, których jest łącznie 158 i pochodzą w większości z ostatniej dekady. Ta część pracy jest opatrzona bardzo dobrej jakości rycinami, które ułatwiają podążanie za tekstem i koncepcją autorki. Od samego początku widoczna jest dbałość doktorantki nie tylko o zawartość oraz treść ale i formę pracy (w tym figury), co należy zdecydowanie pochwalić.

Z drobnych uwag, chciałbym jedynie zasygnalizować kilka sugestii. I tak, na stronie 15 znalazło się dość mało precyzyjne określenie odwołujące się do mutacji w genach BRCA1 i BRCA2 - nie wiadomo, jakie dokładnie mutacje autorka ma na myśli. Tak przedstawiony pobieżny opis wskazuje na konkretne geny ale nie wiadomo czy uwzględnia warianty występujące w konkretnej (np. polskiej) populacji. Na stronach 14 i 15 znajduje się stwierdzenie opisujące „częstotliwość” zamiast częstości występowania raka piersi. Wydaje się, że określenie „współczynnik Ki67” można by zastąpić innym sformułowaniem jak wskaźnik czy marker proliferacji, gdyż lepiej oddaje charakter tego białka. W tekście znajduje się rozwinięcie skrótu zdefiniowanego również w „wykazie skrótów” ale są tu rozbieżności odnoszące się do oryginalnego, anglojęzycznego sformułowania – raz jest to estrogen response a raz estrogen responsive element.

Doktorantka precyzyjnie opisuje przedmiot badań tj. izoformy receptora estrogenowego, odpowiednio ER α 36 oraz α 66, a także ich rolę w patogenezы nowotworu, regulacji ekspresji genów również w kontekście diagnostycznym. Z tego opisu dość jasno wyłania się cel pracy, który koncentruje się wokół udziału ekspresji poszczególnych, alternatywnych izoform wskazanego receptora ER w metabolizmie komórek CAF czyli fibroblastów związanych z nowotworem w kontekście udziału mikrośrodowiska w progresji nowotworu.

Wydaje się, że w pracy, w tym w celu, należałoby unikać określeń opisujących „normalną ilość białka”, a zastąpić to sformułowaniem np. prawidłowa ilość białka. Zapożyczenie użyte przez doktorantkę z języka angielskiego nie zawsze oddaje charakter

przedmiotu. Kolejną część pracy to Materiały i następnie Metody, w których bardzo szczegółowo doktorantka zawarła opis buforów oraz stosowanych klasycznych ale i nowoczesnych metod molekularnych. Co warte podkreślenia i pochwały, do badań włączono 418 chorych, a mikromacierze tkankowe przeprowadzono z wykorzystaniem 80 próbek. Co bardzo wartościowe, badania przeprowadzono we współpracy z przedstawicielami innych specjalności, wymienionych w pracy z nazwiska. Tu należy się wyraz uznania dla tych, co uznają wkład i pomoc innych. Badania cechuje dociekliwość i podążanie za wytyczonym celem. Szczególnie istotny element pracy to porównanie wyników badań uzyskiwanych za pomocą dwóch różnych metod jak qPCR i FISH. Wydaje się, że przy opisie qPCR zabrakło dość kluczowej informacji odnośnie rodzaju wykorzystanych oligonukleotydów inicjujących proces odwrotnej transkrypcji, co może mieć znaczenie dla jakości i ilości uzyskiwanego cDNA.

Kolejną drobną uwagę to sugestia aby nie stosować stwierdzenia opisującego rozdział na lecz w żelu, kiedy opisywany jest proces immunoidentyfikacji/western blot. Wydaje się również, że stosowanie terminologii opisującej pożywkę lub podłoże hodowlane byłoby trafniejsze niż stosowanie słowa „medium”. Cenną część rozprawy stanowi opis analizy statystycznej.

Część wynikowa to niewątpliwie najistotniejsza część pracy, wzbogacona rycinami, opisami zmian morfologicznych i metabolicznych zachodzących w badanych komórkach. Znajduje się tu istotne uzasadnienie aspektu klinicznego badań, opis wyników ekspresji alternatywnych wariantów receptora ER ocenionych za pomocą metod qPCR i barwień immunohistochemicznych oraz WB. Zestawienie wyników w tabelkach jest czytelne.

Dyskusja

Dyskusja jest ostrożna i dojrzała. Uwzględnia analizę porównawczą poszczególnych zastosowanych metod, heterogenność materiału klinicznego, aspekty diagnostyczne i rokownicze oraz analizę na poziomie genotypu, proteomu, sekretomu i fenotypu. Podsumowanie jest również ostrożne i uwzględnia najważniejsze wnioski wypływające z pracy. Autorka nawiązuje do faktu, że badane izoformy analizowanego receptora ER α odgrywają istotną rolę nie tylko w komórkach nowotworowych, ale również w „fibroblastach związanych z nowotworem” w raku piersi. Jest to istotnym wskazaniem do podjęcia badań w zakresie analizy mikrośrodowiska regionu objętego nowotworem w kontekście progresji choroby. Szkoda jednak, że stosowne wnioski nie zostały jednoznacznie wypunktowane.

Strona formalna pracy i forma

Rozprawa została przygotowana bardzo starannie z zastosowaniem standardowych zaleceń. Błędy edytorskie są bardzo nieliczne. Zdaniem recenzenta warto, zwłaszcza w dłuższych i wielowątkowych zdaniach, stosować średniki. W niektórych rycinach (począwszy od ryciny 1) trudno znaleźć informację odnośnie źródła ich zapożyczenia, a fakt ten wydaje się bezsprzeczny. Na stronie 22 znajduje się informacja o terapii antynowotworowej podczas gdy lepszym określeniem byłoby określenie odnoszące się do terapii przeciwnowotworowej. W sekcji Metody, tabela 1 – zsumowanie wartości w kolumnie PR daje 101% przypadków.

3. Podsumowanie i wniosek końcowy

Poruszanie się po pracy jest łatwe między innymi dzięki przejrzystości spisu treści i przeplataniu tekstu bardzo czytelnymi elementami graficznymi. Załączony wykaz dorobku jest znaczący i na szczególną uwagę zasługuje duża aktywność doktorantki wyrażona udziałem licznych konferencjach oraz w stażu naukowym w Oklahomie, w Lessard Laboratory, w ramach stypendium Amerykańskiej Komisji Fulbrighta.

Doktorantka porusza w rozprawie bardzo aktualny, ciekawy i jednocześnie trudny temat. Sposób prezentacji uzyskanych wyników jest przejrzysty, a bogate ilustracje stanowią istotne urozmaicenie pracy. Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską stwierdzam, że Autorka przygotowała bardzo ciekawą i wartościową rozprawę, zgodną z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Powyższe wnioski upoważniają mnie do zwrócenia się do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Anny Nagiel do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

4. Wniosek o wyróżnienie

Ze względu na wnikliwą analizę uzyskanych wyników, ich aplikacyjny charakter w kontekście rokowniczym i terapeutycznym w raku piersi oraz w związku z faktem ich opublikowania wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

Z poważaniem



Prof. dr hab. Błażej Rubiś