

dr hab. n. med. Mariusz Koda  
p.o. Kierownik Zakładu Patomorfologii Ogólnej  
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku  
ul. Waszyngtona 13  
15-269 Białystok  
tel.: (85) 748 59 90

### **Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Justyny Durślewicz**

**pt.: „Ocena wartości rokowniczej oraz korelacji kliniczno-biologicznych białka SATB1 wśród wybranych grup pacjentów onkologicznych leczonych operacyjnie”**

**Promotor: prof. dr hab. n. med. Dariusz Grzanka**

Przedstawiona do oceny praca doktorska magister Justyny Durślewicz została przygotowana w Katedrze Patomorfologii Klinicznej Wydziału Lekarskiego *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, a jej Promotorem jest Pan prof. dr hab. n. med. Dariusz Grzanka. Rozprawa doktorska opiera się o spójny tematycznie zbiór dwóch oryginalnych publikacji badawczych. Sumaryczna wartość współczynnika oddziaływania Impact Factor (IF) wynosi 5.177 punktów, natomiast łączne notowanie punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) osiąga 200 punktów. W obu przypadkach doktorantka jest pierwszą oraz korespondencyjną autorką. Publikacje zostały przedstawione w porządku chronologicznym i były publikowane w latach 2021, 2022.

W rozprawie doktorskiej Doktorantka zawarła publikacje będące podstawą rozprawy doktorskiej, a także ich omówienie, co zostało poprzedzone podziękowaniami, spisem treści, notą informacyjną z wykazem publikacji stanowiących rozprawę doktorską, wykazem używanych skrótów, wprowadzeniem w zagadnienia będące punktem wyjścia dla przeprowadzonych badań (białko SATB1, rak płuca, rak trzustki), a także przedstawieniem czterech głównych celów rozprawy. Doktorantka zawarła w rozprawie podsumowanie prac oraz sformułowała sześć wniosków płynących z zaprezentowanych badań. Rozprawa doktorska (88 stron) została uzupełniona o 44 pozycje piśmiennictwa, 13 oświadczeń współautorów publikacji, zgodę Komisji Bioetycznej przy UMK w Toruniu, *Collegium Medicum* w

Bydgoszczy z 25.06.2019 r. o sygnaturze KB336/2018, a także zgodę Komisji Bioetycznej przy UMK w Toruniu, *Collegium Medicum* w Bydgoszczy z 23.06.2020 r. o sygnaturze KB342/220 oraz streszczenie w języku ojczystym oraz angielskim. Całokształt tworzy układ typowy dla pracy doktorskiej i odznacza się poprawnością redakcyjną.

W publikacjach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej mgr Justyna Durślewicz bada ekspresję SATB1 oraz jego subkomórkową lokalizację w niedrobnokomórkowym raku płuca oraz gruczolakoraku przewodowym trzustki, uzupełniając prace badawcze o korelacje ekspresji tego białka z funkcjonalnie powiązаныmi czynnikami takimi jak TLR2 i SMAD3 w raku płuca, a także dodatkowo ezryną i  $\beta$ -kateniną w raku trzustki oraz danymi kliniczno-biologicznymi. Doktorantka podejmując problem badawczy będący przedmiotem przedłożonej rozprawy doktorskiej wyznaczyła cztery główne cele badawcze:

1. Określenie niezależnej wartości rokowniczej SATB1 z uwzględnieniem jego subkomórkowej lokalizacji ocenionej immunohistochemicznie w kohorcie własnej oraz publicznie dostępnych danych transkryptomicznych pozyskanych z The Cancer Genome Atlas (TCGA).
2. Ocenę zależności pomiędzy tkankową ekspresją SATB1 a wybranymi danymi klinicznymi, histologicznymi oraz biologicznymi (TLR2, SMAD3, ezryna oraz  $\beta$ -katenina) analizowanych grup pacjentów.
3. Określenie wpływu panelu uwzględniającego SATB1 oraz powiązanych markerów na czas przeżycia całkowitego pacjentów w analizowanych grupach.
4. Ocenę wzajemnych korelacji biologicznych pomiędzy ekspresją SATB1 a funkcjonalnie powiązаныmi markerami: TLR2, SMAD3, EZR oraz CTNNB1.

Należy zwrócić uwagę, że wyznaczone przez mgr Justynę Durślewicz cele ukierunkowane są na wypełnienie luki oraz wyjaśnienie niespójności doniesień na temat klinicznej wartości białka SATB1 w niedrobnokomórkowym raku płuca i gruczolakoraku przewodowym trzustki. Obie te jednostki onkologiczne charakteryzują się licznymi porażkami terapeutycznymi, a co za tym idzie wysoką śmiertelnością. Z uwagi na fakt, że obserwujemy globalny wzrost zapadalności na te nowotwory,

prowadzenie badań nad ich biologią zwiększa prawdopodobieństwo ujawnienia nieznanych jeszcze mechanizmów rozwoju lub progresji, co w przyszłości może przełożyć się na dokładniejszą stratyfikację pacjentów i dobór bardziej efektywnych strategii terapeutycznych.

Białko SATB1 (Special AT-rich DNA Binding protein -1) jest elementem macierzy jądrowej, często określanym mianem „organizatora genomu”. Bierze udział w utrzymaniu i zagęszczeniu chromatyny, której poziom kondensacji i dostępności dla czynników transkrypcyjnych odgrywa kluczową rolę w regulacji ekspresji genów. Zaburzenia regulacji organizacji chromatyny i związane z nimi zmiany ekspresji genów kodujących przebieg wielu strategicznych procesów komórkowych, są ściśle związane z procesami kancerogenezy. Zmiany struktury chromatyny czy składu macierzy jądrowej, w tym białek regulujących organizację chromatyny, aktualnie znajdują się w kręgu zainteresowań wielu badaczy, gdyż zaburzenia te leżą u podstaw rozwoju i progresji nowotworów.

W pierwszej z oryginalnych prac włączonych do osiągnięcia naukowego „*Prognostic significance of TLR2, SMAD3 and localization-dependent SATB1 in stage I and II non-small-cell lung cancer patients*” Doktorantka wraz ze współpracownikami oceniła ekspresję białka SATB1, TLR2, SMAD3 przy użyciu metod immunohistochemicznych w grupie 69 pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca w I i II stopniu zaawansowania klinicznego z kohorty własnej oraz wykorzystała publicznie dostępne dane zgromadzone w ramach projektu The Cancer Genom Atlas (TCGA).

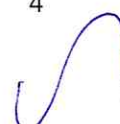
W pracy przedstawiono ciekawą obserwację, jaką jest dualizm subkomórkowej ekspresji SATB1 i potencjalne implikacje wykorzystania tego zjawiska jako czynnika rokowniczego. Analiza ekspresji tego białka wykazała, że nasilona ekspresja jądrowa jest korzystnym czynnikiem prognostycznym dla czasu przeżycia pacjentów, a w analizie wieloczynnikowej skorygowanej o wiek, płeć i stadium zaawansowania pozostała niezależnym czynnikiem prognostycznym. Z kolei odczyn cytoplazmatyczny SATB1 wykazał związek z krótszym czasem przeżycia pacjentów i był predyktorem niekorzystnego rokowania w analizach jedno- i wieloczynnikowej. Uzyskane wyniki zostały wzbogacone o analizę danych zgromadzonych w ramach projektu TCGA, które potwierdziły związek pomiędzy mRNA SATB1, a czasem przeżycia chorych. W publikacji wykazano również związek ekspresji SMAD3 ze stopniem złośliwości

histologicznej nowotworu, stopniem zaawansowania nowotworu (cecha T) oraz stopniem zaawansowania klinicznego. Z analizy danych pochodzących z badania na kohorcie własnej wyciągnięto wniosek, iż ekspresja SMAD3 koreluje z dłuższym przeżyciem, co nie znalazło odzwierciedlenia w analizie danych z bazy TCGA, gdzie trend był odwrotny. W przypadku ekspresji TLR2 wykazano istotną statystycznie korelację z typem histologicznym nowotworu, a dodatkowe analizy całkowitego czasu przeżycia wykazały niekorzystny związek. Również w kohorcie TCGA wysoka ekspresja TLR2 była skorelowana z niekorzystnym wskaźnikiem przeżycia.

Doktorantka nawiązując do funkcjonalnej zależności badanych czynników przeprowadziła analizę wpływu koekspresji SATB1, SMAD3 i TLR2 na przeżycie pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca i wykazała, że profil ekspresji SATB1<sup>n-high</sup>/SMAD3<sup>high</sup>/TLR2<sup>low</sup> wiąże się z najdłuższym czasem przeżycia, i pozwala przewidywać całkowity czas przeżycia lepiej, niż analizowane czynniki pojedynczo. Wyniki swoich badań Doktorantka poddała wnikliwej analizie i dyskusji bazując w całej publikacji na 77 pozycjach dość aktualnego piśmiennictwa (11 publikacji pochodzących z lat 2020, 2021).

W drugiej oryginalnej pracy będącej podstawą przedłożonej rozprawy doktorskiej „*Prognostic significance of SATB1, SMAD3, Ezrin and  $\beta$ -catenin in patients with pancreatic adenocarcinoma*” Doktorantka wykorzystwała nowoczesną technikę mikromacierzy tkankowej w celu ustalenia wartości rokowniczej oraz korelacji kliniczno-biologicznych SATB1, SMAD3, ezryny i  $\beta$ -kateniny u pacjentów z rozpoznany gruczolakorakiem przewodowym trzustki. Grupę badaną stanowiło 68 pacjentów z kohorty własnej i, tak jak w poprzednim badaniu wykorzystano dane zgromadzone w ramach projektu The Cancer Genom Atlas (TCGA). Doktorantka porównała ekspresję badanych białek w stosunku do tkanek prawidłowych. Dodatkowo przeprowadziła analizę zmian w profilach ekspresji analizowanych genów na poziomie transkryptu na podstawie bazy TCGA. Badanie zostało wzbogacone o wykorzystanie narzędzi bioinformatycznych i skonstruowanie sieci interakcji białko-białko (PPI, ang. protein-protein interactions) uwzględniającą badane czynniki oraz 50 pozytywnie skorelowanych genów.

Na podstawie oceny barwień immunohistochemicznych wykazano niższą jądrową ekspresję SATB1 w komórkach gruczolakoraka przewodowego trzustki w porównaniu do tkanek prawidłowych, podczas gdy ekspresja cytoplazmatyczna tego



białka nieobecna w tkankach prawidłowych, została zaobserwowana w komórkach raka. Stwierdzono również, że wysoki cytoplazmatyczny poziom ekspresji SATB1 wiązał się z gorszym całkowitym przeżyciem. Również analizy jedno- i wieloczynnikowa wykazały, że wysoki cytoplazmatyczny odczyn SATB1 jest predyktorem niekorzystnego rokowania. Opierając się na wynikach analizy wieloczynnikowej danych z bazy TCGA wykazano, że wysoki poziom mRNA SATB1 jest niezależnym pozytywnym czynnikiem rokowniczym. W pracy wykazano również związek między ekspresją  $\beta$ -kateniny, a SATB1, a także związek między ezryną, a stopniem zaawansowania nowotworu (cecha T). W przeprowadzonych analizach wykazano również gorsze przeżycie w przypadku ekspresji białka SMAD3. Wykorzystując dane z bazy TCGA dowiedziono, że SMAD3 oraz EZR są niezależnymi, niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi.

Analogicznie do poprzedniej pracy Doktorantka podjęła próbę złożonego immunofenotypowania i wykazała, że profil SATB1<sup>n-high</sup>/SMAD3<sup>low</sup>/Ezryna<sup>low</sup>/ $\beta$ -catenina<sup>low</sup> przekładał się na dłuższy czas przeżycia całkowitego. Doktorantka przedstawiła wyniki swoich badań w odniesieniu do 58 pozycji piśmiennictwa, w tym 8 najaktualniejszych, pochodzących z lat 2020, 2021.

Po zapoznaniu się z przedstawionymi publikacjami, jak i całością rozprawy doktorskiej uważam, że mgr Justyna Durślewicz zrealizowała postawione cele badawcze i sformułowała sześć wniosków, które przynajmniej w części mają nowatorski charakter i potencjał przyszłego wykorzystania w praktyce klinicznej. Złożoność problemu badawczego, którego się podjęła oraz skrupulatny i rzetelny sposób jego rozwiązania podnosi wartość przedłożonej rozprawy. Stwierdzam również, że Doktorantka udowodniła, że potrafi sformułować i rozwiązać oryginalny, odpowiednio ukierunkowany problem naukowy, o silnym uzasadnieniu. Wykazała się umiejętnością wprowadzenia w tematykę badawczą oraz stawiania jasno sformułowanych hipotez badawczych. Odpowiednio dobrała metody badawcze, stosując również nowoczesne techniki oraz zastosowała adekwatne narzędzia do statystycznej analizy uzyskanych danych. Prawidłowo przedstawiła otrzymane wyniki i wykazała się umiejętnością poprawnej ich interpretacji na tle aktualnej wiedzy, a wnioski sformułowała w sposób jasny i istotny dla przedmiotu badań. Doktorantka przeprowadziła dogłębną analizę problemu, wykazując się również zdolnością krytycznej oceny uzyskanych wyników.

Biorąc powyższe pod uwagę, ja, niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Justyny Durślewicz spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku – Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 oraz Dz.U. 2020 poz. 85, z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy o dopuszczenie mgr Justyny Durślewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

p.o. kierownika  
Zakładu Patomorfologii Ogólnej UMB  
  
dr hab. n. med. Mariusz Koda

**dr hab. n. med. Mariusz Koda**  
**p.o. Kierownik Zakładu Patomorfologii Ogólnej**  
**Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**