

Recenzja rozprawy
Prodzikan
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki
Małgorzata Pawłowska

prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska



Katedra i Zakład Patomorfologii
Wydział Medycyny i Stomatologii
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin

Szczecin, 09.07.2023 r.

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

Recenzję przedstawionej mi rozprawy doktorskiej przygotowałem zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Medyczne *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z dnia 19.04.2023 r. powołującą mnie na recenzenta powyższej pracy doktorskiej pismem z dnia 18.05.2023 r.

Rozprawa 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 Profesor dr hab. n. med. Dariusz Grzanka.

Zaburzenia morfologii jądra komórkowego oraz zmiany ekspresji genów są powszechnymi zjawiskami we wszystkich nowotworach szczególnie wyrażonymi w nowotworach złośliwych. Obserwowane przez patomorfologów zmiany morfologiczne jąder komórkowych związane są ze zmianami składu białek jądrowych i jąderkowych o różnorodnej funkcji i lokalizacji. Wśród nich można wyróżnić białka wpływające na strukturę organizacji przestrzennej chromatyny, które mogą wpływać na aktywność transkrypcyjną genów. Do nich należy białko SATB1 (*Special AT-rich DNA Binding Protein*), które stanowi główny przedmiot zainteresowań badawczych Doktorantki i ocena ekspresji którego oraz jego subkomórkowej lokalizacji, w korelacji z innymi, wybranymi białkami i parametrami

kliniczno-patologicznymi jest podstawą niniejszej dysertacji. Doktorantka bada powyższe parametry i zależności w materiale histologicznym raków niedrobnokomórkowych płuca (gruczolakoraków, raków płaskonabłonkowych i olbrzymiokomórkowych) oraz raków przewodowych trzustki wyznaczając cztery następujące 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 β -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.

Oceniana przeze mnie rozprawa doktorska obejmuje dwie spójne tematycznie publikacje, które dodatkowo opatrzone są: wprowadzeniem, określeniem celu pracy, omówieniem prac włączonych do osiągnięcia naukowego, podsumowaniem, wnioskami, spisem piśmiennictwa, oświadczeniami współautorów publikacji, zgodą Komisji Bioetycznej oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim, co w tej części stanowi typowy układ prac doktorskich uzupełniający wspomniane wyżej artykuły. W całości rozprawa wraz z dwiema publikacjami obejmuje 88 stron tekstu oraz 44 pozycje piśmiennictwa w części opisowej poza publikacjami. Podstawę rozprawy doktorskiej stanowią dwie powiązane tematycznie pełnotekstowe, oryginalne publikacje badawcze o łącznym współczynniku oddziaływania *Impact Factor* równym 5,177 i sumarycznej punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego równej 200 punktów. W obu publikacjach Doktorantka jest pierwszą i korespondencyjną autorką.

1. **Durślewicz Justyna**, Klimszewska-Wiśniewska Anna, Józwicki Jakub, Antosik Paulina, Smolińska-Świtała Marta, Gagat Maciej, Kowalewski Adam, Grzanka Dariusz „*Prognostic significance of TLR2, SMAD3 and localization-dependent SATB1 in stage I and II non-small-cell lung cancer patients*” *Cancer Control* 2021: Vol. 28, 1-14.

2. **Durślewicz Justyna**, Klimszewska-Wiśniewska Anna, Domanowska Ewa, Skoczylas-Makowska Natalia, Antosik Paulina, Zielińska Wioletta, Gzil Arkadiusz, Czajkowska Paulina, Mikołajczyk Klaudia, Grzanka Dariusz „*Prognostic significance of SATB1, SMAD3, Ezrin and β -catenin in patients with pancreatic adenocarcinoma*” Appl. Sci.-Basel 2022: Vol.12, nr 1: 1-26, 306.

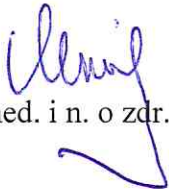
W publikacji „*Prognostic significance of TLR2, SMAD3 and localization-dependent SATB1 in stage I and II non-small-cell lung cancer patients*” Doktorantka wraz ze współpracownikami oceniła za pomocą metod immunohistochemicznych ekspresję białek TLR2, SMAD3 i SATB1 w materiale tkankowym z 69 przypadków raków niedrobnokomórkowych płuca. Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej. Doktorantka wykazała ekspresję jądrową białka SATB1 w 49% a cytoplazmatyczną w 20% badanych przypadków. Analiza ekspresji tego białka w odniesieniu do czasu przeżycia chorych wykazała związek wysokiej ekspresji jądrowej SATB1 z dłuższym czasem przeżycia a ekspresji cytoplazmatycznej z krótszym przeżyciem chorych. Uważam to za najważniejszy wynik badań wskazujący na znaczenie rokownicze subkomórkowej lokalizacji tego białka. Również analizy na poziomie mRNA wykazały związek wyższej ekspresji SATB1 z lepszym przeżyciem chorych. W przypadku białka SMAD3 jego wysoka ekspresja była również skorelowana z lepszym przeżyciem. Jednocześnie Autorka wykazała wyższą ekspresję SMAD3 w guzach o wyższym stopniu złośliwości histologicznej (G3) oraz w przypadkach o niższym stopniu zaawansowania klinicznego (*stage I*). Rozbieżność wyników i korelacji Doktorantka poddaje krytycznej analizie i dyskusji wysuwając tezę, że funkcja tego białka może być zmienna zależnie od zaawansowania nowotworu. Ekspresję białka TLR2 wykazano w stosunkowo niskim odsetku przypadków (12%) z preferencją ekspresji w gruczolakorakach a jego obecność okazała się czynnikiem złego rokowania. Doktorantka podjęła się ustalenia zależności rokowniczej fenotypu komórek rakowych w zakresie badanych białek wykazując, że fenotyp: „SATB1-jądrowy, SMAD3-wysoka ekspresja i TLR2-niska ekspresja” był korzystny rokowniczo. W świetle tych ciekawych i wartościowych wyników uważam, że Doktorantka niepotrzebnie próbuje omawiać różnice, które nie osiągnęły istotności statystycznej (np. związek SATB1-cytoplazmatycznego z płcią czy SMAD3 z wiekiem). W publikacji nie ma odniesienia do ekspresji badanych białek w tkance prawidłowej co nie stanowi błędu (nie wynika z założeń pracy), a jedynie nie zaspokaja ciekawości Recenzenta. Wszystkie uzyskane wyniki Doktorantka poddaje analizie uwzględniając ograniczenia wynikające z zastosowanej metodyki badań i liczebności badanych grup.

W drugiej publikacji stanowiącej podstawę niniejszej dysertacji „*Prognostic significance of SATB1, SMAD3, ezrin and β -catenin in patients with pancreatic adenocarcinoma*” Doktorantka oceniła ekspresję wymienionych w tytule pracy białek w macierzach tkankowych z 68 przypadków gruczolakoraka przewodowego trzustki. Wśród badanych raków zdecydowanie przeważały guzy o średnim stopniu zróżnicowania (G2 = 81%) co mogło mieć wpływ na część analiz w odniesieniu do tego parametru. Doktorantka porównała ekspresję badanych białek w stosunku do tkanek niezmiennych nowotworowo wykazując niższą ekspresję jądrową białka SATB1 w komórkach raka niż w tkance kontrolnej. Wykazała również obecność ekspresji cytoplazmatycznej tego białka wyłącznie w komórkach rakowych. Stwierdziła także wyższą ekspresję białka SMAD3 i ezryny a niższą β -kateniny w komórkach gruczolakoraka trzustki niż w tkance niezmiennych nowotworowo. Analiza związku ekspresji badanych białek z przeżyciem pacjentów wykazała gorsze przeżycie w przypadku ekspresji cytoplazmatycznej SATB1 i wyższej ekspresji białka SMAD3. Doktorantka podjęła próbę ustalenia korzystnego rokowniczo fenotypu komórek rakowych w oparciu o ekspresję badanych białek z uwzględnieniem lokalizacji subkomórkowej białka SATB1. Fenotyp: „wysoka ekspresja jądrowa SATB1, niska ekspresja SMAD3, niska ekspresja ezryny i niska ekspresja β -kateniny”, przekładał się na dłuższe przeżycie chorych. W przypadku ekspresji cytoplazmatycznej SATB1, fenotyp: „ekspresja cytoplazmatyczna SATB1, wysoka ekspresja SMAD3, wysoka ekspresja ezryny i wysoka ekspresja β -kateniny”, wiązał się ze znacznie gorszym przeżyciem. Jednak w tym przypadku mam poważne wątpliwości co do rzeczywistego związku tego fenotypu z czasem przeżycia związanym z nowotworem. Średni czas przeżycia w analizie Kaplana-Meiera w przypadku niekorzystnego fenotypu wynoszący osiem dni może wskazywać na zgony w okresie okołoperacyjnym, które nie mają związku z przebiegiem samego gruczolakoraka trzustki. Zaznaczam jednak, że wątpliwości takiej nie budzi analiza fenotypu z ekspresją jądrową SATB1. Doktorantka podjęła się również analizy powiązań między badanymi białkami i ich partnerami w celu przewidzenia potencjalnych ścieżek sygnałowych wykazując ich udział głównie w ścieżce WNT/ β -katenina. W oparciu o uzyskane wyniki Doktorantka wysnuła wniosek, iż zmniejszona ekspresja jądrowa białka SATB1 i jego retencja w cytoplazmie wiąże się z utratą jego funkcji jądrowych co przekłada się na gorsze rokowanie a zatem przemawia za funkcją supresyjną białka SATB1 w procesie karcynogenezy. Wniosek taki popiera również fakt, iż wyższa ekspresja SATB1 na poziomie mRNA przekłada się na lepsze rokowanie. W oparciu o uzyskane wyniki Doktorantka wysunęła również wniosek, że ekspresja SMAD3 może odzwierciedlać wyższy potencjał złośliwości gruczolakoraków trzustki. Doktorantka

krytycznie podchodzi do uzyskanych wyników wykazując rozbieżności w zależności od analiz na poziomie białka i mRNA oraz ograniczeń wynikających ze stosunkowo niewielkich grup badanych po podziale 68 przypadków w zależności od analizowanych parametrów.

W oparciu o wyniki cyklu badań przedstawionych w dwóch publikacjach oraz opisanych skrótowo w dysertacji, Doktorantka formułuje sześć wniosków z których najważniejsze zdaniem Recenzenta dotyczą możliwości stratyfikacji pacjentów z rakami niedrobnokomórkowymi płuca i gruczolakorakami przewodowymi trzustki na grupy ryzyka w oparciu o ekspresję badanych białek. Moim zdaniem Doktorantka zrealizowała przedstawione w dysertacji cele, wyniki badań przedstawiła w formie dwóch dobrze przygotowanych publikacji oraz wyciągnęła z nich prawidłowo sformułowane wnioski.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że magister Justyna Durślewicz spełniła wszelkie wymogi formalne dla uzyskania stopnia naukowego doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu, a przygotowana przez Nią rozprawa oparta o cykl opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych spełnia wymogi określone w art. 187 Ustawy z dnia 20.07.2018 r. – Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 oraz Dz.U. 2020 r., poz. 85, z późniejszymi zmianami). Założone cele, ich realizacja i uzyskane wyniki są spójne i mogą być przydatne również z punktu widzenia kliniki. Doktorantka udowodniła, że potrafi samodzielnie sformułować oryginalny problem naukowy i go rozwiązać. Potrafi Ona również poddać analizie uzyskane wyniki, przeprowadzić ich dyskusję porównując swoje wyniki z wynikami innych grup badawczych oraz wyciągnąć, prawidłowo sformułowane wnioski. **Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z wnioskiem o dopuszczenie magister Justyny Durślewicz do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.**


dr hab. n. med. i n. o zdr. Marek Masiuk