

dr hab. n. med. Andrzej Kram
Zakład Patomorfologii
Zachodniopomorskie Centrum Onkologii
w Szczecinie

Szczecin, 02 listopada 2019 r.

Ocena pracy doktorskiej

lek. Marleny Janiczek pt.:

„Dwa niezależne szlaki procesu zapalnego w raku gruczołu krokowego”

Zapalenie jest częstym elementem chorób prostaty i obecnie przyjmuje się, że może ułatwiać proliferację komórkową zarówno w stanach łagodnych, jak i złośliwych. Związek między zapaleniem gruczołu krokowego a patogenezą łagodnego rozrostu gruczołu krokowego (BPH) jest poparty dowodami epidemiologicznymi, histopatologicznymi i molekularnymi. Przeciwnie, rola stanu zapalnego w karcynogenezie prostaty jest nadal kontrowersyjna, chociaż aktualne dane wskazują, że bardzo złożone środowisko zapalne może regulować wzrost komórek nowotworowych i stopień zaawansowania raka prostaty (PCa). Znajomość złożonego krajobrazu molekularnego związanego z przewlekłym stanem zapalnym w kontekście PCa może prowadzić do wprowadzenia i optymalizacji nowatorskich terapii celowanych. W tej perspektywie ocena składnika zapalnego w prostacie może być cennym przyczynkiem do zrozumienia wpływu zapalenia na powstanie raka gruczołu krokowego.

Otrzymana do recenzji praca dotyczy oceny dwóch szlaków procesu zapalnego w raku gruczołu krokowego zapoczątkowanych przez interleukiny IL-17A i IL-17F, określenia, czy występuje różnica w obecności nacieku zapalnego w materiale tkankowym pochodzącym od pacjentów z rakiem gruczołu krokowego w porównaniu do grupy kontrolnej oraz czy ta różnica zależy od stopnia złośliwości histologicznej wg skali Gleasona

Otrzymaany egzemplarz pracy jest napisany w układzie typowym dla prac doktorskich i obejmuje 99 ponumerowane strony maszynopisu, w tym na 17 stronach zawarto wstęp pracy, 1 strona to cel pracy, materiał i metody zawarto na 7 stronach, wyniki na 21 stronach, dyskusję na 21 stronach, a wnioski na 1 stronie. Praca zawiera 24 ryciny oraz 5 tabel z

wynikami badań. W spisie piśmiennictwa zamieszczono 206 pozycji, głównie anglojęzycznych, w tym 68 prac (33%) opublikowanych w 2014 roku lub później.

Przedstawiony na początku pracy wykaz stosowanych **skrótów**, ułatwia znacznie lekturę dysertacji, choć niestety nie obejmuje wszystkich skrótów pojawiających się w pracy.

We **wstępie** Autorka szczegółowo opisuje aspekt historyczny raka gruczołu krokowego i jego etiopatogenezę, zwracając szczególną uwagę na rolę receptora androgenowego z wykorzystaniem terapeutycznym blokady androgenowej. Kolejno omówiona jest epidemiologia raka prostaty na świecie i w Polsce. Następnie omawiane są wybrane czynniki prognostyczne i predykcyjne, ze szczególnym uwzględnieniem systemu oceny stopnia złośliwości histologicznej wg Gleasona, w tym jego zmodyfikowanej wersji z 2013 roku.

Następnie Doktorantka ciekawie i bardzo szczegółowo opisuje tematykę wpływu stanu zapalnego na rozwój raka prostaty, w tym niebagatelną rolę wybranych mediatorów stanu zapalnego, to jest TNF-alfa, IL-6 i IL-17.

Na stronie 31. Autorka sformułowała główne cele pracy doktorskiej. Są nimi:

- ocena dwóch niezależnych szlaków procesu zapalnego w raku gruczołu krokowego zapoczątkowanych przez IL-17A oraz IL-17F.

- określenie, czy występuje różnica w obecności nacieku zapalnego w materiale tkankowym pochodzącym od pacjentów z rakiem gruczołu krokowego w porównaniu do grupy kontrolnej tj. pacjentów z łagodnym rozrostem

- określenie, czy występuje różnica w obecności nacieku zapalnego w materiale tkankowym pochodzącym od pacjentów z rakiem gruczołu krokowego w poszczególnych stopniach złośliwości histologicznej nowotworu ocenianych w klasyfikacji Gleasona.

Warto zwrócić uwagę, że sformułowanie „nacieku zapalnego” sugeruje Recenzentowi-patomorfologowi ocenę mikroskopową jakościową bądź ilościową komórek zapalnych w utkaniu lub otoczeniu guza, a tak naprawdę Autorka analizowała w swojej pracy ekspresję kilku białek procesu zapalnego i co ciekawe, nie w komórkach zapalnych, a w cytoplazmie komórek rakowych. Powyższe sformułowanie użyte w opisie celów jest więc zbyt ogólne i nieprecyzyjne. Wystarczyło napisać „białek procesu zapalnego” zamiast niezbyt trafnego „nacieku zapalnego”.

W kolejnym dziale **Materiał i metody** Autorka omawia szczegółowo charakterystykę grupy badanej, metody wykonania oraz sposób oceny reakcji immunochemicznych użytych

do oceny ekspresji białek procesu zapalnego w materiale histopatologicznym. Badanie miało charakter retrospektywny, nieinwazyjny, w oparciu o materiał uzyskany podczas operacji prostaty (prostektomia lub TURP) wykonanych w Szpitalu Uniwersyteckim nr 1 w Bydgoszczy w latach 2010 - 2018. Zwraca uwagę oszczędny sposób pozyskiwania materiału do badań molekularnych z wykorzystaniem niewielkiej ilości materiału tkankowego, wystarczającej jednak do konstrukcji mikromacierzy tkankowych (TMA). Szkoda tylko, że badaniem objęto stosunkowo niewielką grupę pacjentów. Nie jest to zarzut, gdyż ograniczenie ich liczby wynikało z rzadkości występowania wysokich stopni złośliwości histologicznej wg Gleasona, co zostało trafnie wykazane przez Autorkę. Autor niniejszej recenzji, podobnie jak Doktorantka, nie natrafił nigdy swojej codziennej praktyce histopatologicznej na najwyższy stopień złośliwości histologicznej, czyli Gleason 10 (5+5).

Wyniki badań przedstawiono szczegółowo w tekście wzbogaconym licznymi rycinami z wynikami reakcji immunohistochemicznych, a także podano na wykresach, odpowiednio korelując je ze sobą. Na stronie 46 wkradła się nieścisłość: Autorka pisze, że nie wykazała wyższej ekspresji TRAF6 w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy badanej. Sądząc z analizy wykresu (Ryc.10), ekspresja białka TRAF6 jest faktycznie niższa w grupie PCa niż w kontrolnej. Jednak podany w tekście współczynnik istotności statystycznej p jest mniejszy od 0,05 ($p < 0,05$), czyli że jest to zależność istotna statystycznie.

W **dyskusji** Autorka bardzo obszernie i wyczerpująco przedyskutowała otrzymane przez siebie wyniki z dostępnymi w literaturze. Na stronie 68 pojawia się zdanie: „W naszych badaniach wykazano podwyższony poziom TRAF6 w grupie badanej do grupy kontrolnej...” co stoi w sprzeczności do informacji zawartych podczas omawiania wyników na stronie 46.

Wnioski w liczbie 3, w tym pierwszy opisany w 6 podpunktach, znajdują uzasadnienie w przedstawionych wynikach i odpowiadają założonym celom pracy, wymagają jednak pewnego komentarza. W trakcie czytania tego opracowania nasuwają mi się bowiem następujące dwa pytania do Autorki:

1. *Na czym polega owa „niezależność” dwóch szlaków procesu zapalnego, skoro 3 pierwsze składniki w obu są identyczne, a różne jest tylko białko na końcu zaproponowanego szlaku alternatywnego w stosunku do podstawowego: NF-kB w szlaku podstawowym versus C/EPB beta w alternatywnym.*
2. *Jak wytłumaczyć wyższą ekspresję immunohistochemiczną białek IL-17A, TRAF6 i NF-kB w komórkach łagodnego rozrostu w stosunku do komórek rakowych ?*

Cała alternatywna zapalna kaskada sygnałowa zaproponowana w pracy wymaga jeszcze wielu badań potwierdzających, stanowi jednak interesujący własny dorobek Autorki.

Za jedno z ważnych osiągnięć tej pracy doktorskiej uznaję także wykazanie, że w komórkach raka prostaty i łagodnego rozrostu nie występuje białko IL-17RA.

W podsumowaniu chciałbym podkreślić, że lekarz Marlena Janiczek przedstawiła pracę dotyczącą istotnego i ciekawego zagadnienia związku pomiędzy ekspresją kilku istotnych białek szlaków zapalnych a zmianami morfologicznymi prostaty: łagodnego rozrostu prostaty i raka prostaty, w tym korelacji ze stopniem złośliwości histopatologicznej wg Gleasona. Może stanowić to w przyszłości podstawę celowanych działań terapeutycznych. Oceniana dysertacja jest samodzielnym rozwiązaniem problemu naukowego, wskazuje na umiejętności prawidłowego prowadzenia badań naukowych oraz doświadczenie kliniczne w zakresie poruszanego tematu.

Na podstawie dokonanej oceny stwierdzam, że rozprawa doktorska lekarz Marleny Janiczek p.t.: „Dwa niezależne szlaki procesu zapalnego w raku gruczołu krokowego” odpowiada wymaganiom ustawowym o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki stawianym pracom doktorskim (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.).

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie lekarz Marleny Janiczek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med. Andrzej Kram
specjalista patomorfolog
4562793