

Poznań, 25.05.2022

Prof. dr hab. n. med. Anna Markowska
Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety
Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Narodowy Instytut Onkologii
im. Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy
ul. W.K. Roentgena 5
02-781 Warszawa

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Podgórskiej pt. *Ocena prognostycznego znaczenia ekspresji wybranych białek i genów działających w sieci TP53 u pacjentek z rakiem jajnika*.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Agnieszki Podgórskiej zawarta jest na 126 stronach i podzielona na konwencjonalnie przyjęte rozdziały.

Wstęp pracy obejmuje informacje niezbędne do dalszych etapów rozprawy. Podzielony jest prawidłowo na podrozdziały: epidemiologia raka jajnika, teoria jego powstawania, klasyfikacja i leczenie pacjentek z rakiem jajnika. Następnie Doktorantka z bardzo dokładną znajomością tematu omawia białko TP53 oraz powiązane z nim białka MDM2, HUWE1 i 14-3-3 σ , które wpływają na poziom i aktywność białka TP53.

Epidemiologia została oparta na danych Krajowego Rejestru Nowotworów z roku 2010. Po tym okresie ~~ukazało~~ ukazało się kilka nowych opracowań. Według Biuletynu Narodowego Instytutu Onkologii - Nowotwory Złośliwe w Polsce w 2019 roku (Didkowska J i wsp. ; Warszawa 2021) na raka jajnika zachorowało

3710 kobiet. Natomiast 3600 zachorowań odnotowano w 2010 r. jak podaje Autorka. Podobnie z danymi światowymi: Doktorantka wg starszych danych cytuje liczbę zachorowań jako 240 000, a według Światowego Rejestru Globocan z 2020 roku liczba ta jest wyższa i wynosi 313 959 zachorowań.

Również dane o zachorowalności na raka jajnika u kobiet z mutacjami w *BRCA1* i *BRCA2* są już nieco inne. Szacuje się, że 10-25% kobiet u których rozpoznano raka jajnika jest nosicielkami wymienionych zmutowanych genów, a nie jak podano w rozprawie 10%. Dotyczy to również odsetka ryzyka życiowego zachorowania na raka jajnika u nosicielek mutacji *BRCA1* - 39-63% (Angeli D. i wsp. Int J Mol Sci. 2020; 21,1128, Konstantinopoulos PA. J Clin Oncol. 2020; 38,1222 -45), a nie 36-46% wg źródeł z 2009 roku.

W dalszej części wstępu Autorka bardzo ciekawie omawia kolejne teorie powstawania raka jajnika. Na stronie 12 Autorka odnosi się do teorii powstawania raka jajnika na podłożu endometriozy. Warto zauważyć, że według nowszych opracowań (Nezhat FR. et al. Int J Gynecol Cancer 2014; 24, 623 i Kvaskoff M. et al. Hum Repr Update. 2021; 27(2), 393) na podłożu endometriozy mogą powstawać nie tylko raki endometrialne jajnika, ale również jasnokomórkowe.

W podrozdziale dotyczącym białka MDM2 (strona 25) Autorka wymienia geny proapoptotyczne, w tym *BAX* i *Bcl-2*. Jakkolwiek obydwie geny regulują proces apoptozy, wydaje się, że to gen *BAX* ma działanie proapoptotyczne, natomiast *Bcl-2* antyapoptotyczne.

Cele pracy zawarte w czterech punktach zostały sformułowane przejrzysto. Ocena ekspresji białek regulujących poziom białka TP53 (*MDM2*, *HUWE1* i *14-3-3σ*) wpływających na przebieg raka jajnika oraz ich związek z uznanymi czynnikami klimatyczno-patologicznym jest niezwykle interesująca.

Podrozdział Materiał i Metody opracowany jest bardzo dokładnie i przejrzysto, według obowiązujących standardów. Badania ekspresji białek na archiwalnym materiale 239 zaawansowanych raków jajnika oraz ekspresji mRNA na materiale 74 zaawansowanych raków jajnika uwzględniają stopnie zaawansowania, rozpoznanie, dojrzałość histologiczną oraz precyzyjną odpowiedź na leczenie.

Metody zastosowane w pracy są odpowiednie do tego typu badań. Ocena ekspresji białek była dobierana do każdego typu reakcji immunohistochemicznej - lokalizacja białek oceniana była w jądrze (*MDM2*, *HUWE1*, *TP53*) oraz w cytoplazmie (*14-3-3σ*).

W 74 rakach jajnika oznaczano poziom ekspresji genów *MDM2*, *HUWE1* i *14-3-3σ* metodą ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym (Real-time PCR).

Analiza statystyczna przeprowadzona jest prawidłowo. Wyniki badań są rzetelne, wszechstronnie opracowane, poparte fotografiami i tabelami przedstawiającymi immunohistochemiczną ekspresję białek.

Niezwykle interesujące są zróżnicowane wyniki ekspresji tych białek w odpowiedzi na chemioterapię, całkowitą remisję i przeżycie w zależności od statusu TP53.

Ekspresja białka *MDM2* związana była z odpowiedzią na leczenie chemiczne – jej wysoki poziom zmniejszał istotnie prawdopodobieństwo platynowrażliwości, zwłaszcza w grupie chorych bez akumulacji białka TP53. Poziom ekspresji białka *MDM2* nie wpływał na przeżycie pacjentek z rakiem jajnika.

Wykazano negatywny wpływ wysokiego poziomu ekspresji białka *HUWE1* na czas całkowitego przeżycia pacjentek z rakiem jajnika, ale tylko w podgrupie nowotworów z akumulacją białka TP53. Poziom ekspresji *HUWE1* nie był związany z platynowrażliwością lub osiągnięciem całkowitej remisji u pacjentek, niezależnie od statusu TP53.

Wysoka ekspresja białka *14-3-3σ* zwiększała istotnie prawdopodobieństwo całkowitej remisji w grupie chorych bez akumulacji białka TP53, bez wpływu na platynowrażliwość. Natomiast nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem ekspresji białka *14-3-3σ*, a czasem wolnym od choroby lub czasem całkowitego przeżycia pacjentek z rakiem jajnika.

Ponadto Autorka przeprowadziła szczegółową analizę zależności pomiędzy ekspresją badanych białek a parametrami kliniczno-patologicznymi oraz korelację pomiędzy ekspresją genów produkujących te białka a TP53.

Dyskusja jest mocną stroną rozprawy. Autorka wykazała wartość przedstawionych wyników dotyczących ekspresji badanych genów i ich białek w prognozie zaawansowanych raków jajnika.

Dyskutuje ona swoje wyniki badań między innymi z wynikami dwóch innych badań obejmujących grupę: 492 i 185 pacjentek z rakiem jajnika. Badania Autorki pracy są ważne i zasadne, ponieważ w przedstawionych poprzednich pracach istnieją kontrowersje dotyczące częstości występowania nadekspresji białka *MDM2* w raku jajnika. Z dyskusji wynika również ważność oznaczeń tego białka w innych

nowotworach złośliwych niż rak jajnika. Ten sam problem poruszyła Autorka w odniesieniu do aktywności białka HUWE1, wskazując na jego związek z przebiegiem raka jajnika u chorych z mutacją w genach *BRCA*, a także w innych nowotworach złośliwych.

W dyskusji Autorka podniosła znaczenie ekspresji białka 14-3-3 σ oraz genu SFN (stratyfina) w różnych typach nowotworów złośliwych oraz w raku jajnika. Jej badania zgodne są co do lokalizacji cytoplazmatycznej tego białka oraz zależności między wysoką ekspresją i prawdopodobieństwem całkowitej remisji w grupie chorych z prawidłowym poziomem TP53. Konkluzją tej dyskusji jest możliwość wykorzystania oznaczeń ekspresji omawianych białek i genów w personalizowanej terapii chorych na raka jajnika.

Wnioski w liczbie 3 odpowiadają w zupełności na postawiony cel pracy. Pozwalają na ocenę związku między ekspresją badanych białek i genów, a wrażliwością na chemioterapię, jak i przebieg kliniczny lub ryzyko wznowy (w przypadku 14-3-3 σ).

Bibliografia – obszerna, w liczbie 166 pozycji jest dobrze dobrana i cytowana w tekście. Uwagę zwraca fakt, że tylko 17 pozycji opublikowano w ostatnich 5-ciu latach, co warto byłoby uzupełnić w ewentualnych publikacjach.

W podsumowaniu: bardzo wartościowa, oryginalna praca z istotnymi implikacjami klinicznymi. Nieliczne uwagi nie umniejszają jej wartości, dlatego też stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Agnieszki Podgórskiej spełnia warunki określone w art.187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r o szkolnictwie wyższym (Dz.U. z 2021, poz 478 ze zm.), zatem wnoszę o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wartość kliniczną pracy oraz możliwość wykorzystania w nowoczesnych terapiach onkologicznych wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

3286754 | Prof. dr hab. med. Anna Markowska
SPECJALISTA GINEKOLOG-POŁOŻNIK
GINEKOLOG-ONKOLOG
tel. 602 605 994
Anna Markowska