



Warszawa, dn. 22.07.2023

RECENZJA
rozprawy doktorskiej lek. Katarzyny Stawarz
pt. „Zmiany molekularne w raku gruczołowo – torbielowatym gruczołów
ślinowych”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Immunoterapii Eksperymentalnej Narodowego Instytutu Onkologii Państwowego Instytutu Badawczego im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie. Promotorem rozprawy jest Kierownik Zakładu dr hab. n. med. Elżbieta Sarnowska, Profesor Instytutu, a Promotorem pomocniczym dr n. biol. Natalia Rusetska.

Pani lek. Katarzyna Stawarz ukończyła Wydział Lekarski Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. Obecnie jest zawodowo związana z Kliniką Nowotworów Głowy i Szyi Narodowego Instytutu Onkologii Państwowego Instytutu Badawczego im. Marii Skłodowskiej - Curie w Warszawie. Kandydatka odbyła łącznie trzy staże zagraniczne w CHI St. Joseph Health Regional Hospital, Bryan, TX, USA oraz The Heart Hospital Baylor Denton, TX, USA. Dotychczasowy dorobek publikacyjny obejmuje 2 prace.

Wartość naukowa rozprawy

Przeprowadzone badania wpisują się w zainteresowania badawcze Zakładu Immunoterapii Eksperymentalnej. Dotyczą patogenezy raka gruczołowo-torbielowatego (ACC) gruczołów ślinowych. Biologia tego guza jest stosunkowo słabo poznana. Choć ACC nie należy do grupy najczęściej diagnozowanych nowotworów, to cechuje go niska immunogenność oraz wysoka śmiertelność. Wynika to m.in. z powolnego wzrostu guza oraz relatywnie częstych wznów i przerzutów odległych, nawet wiele lat po zakończeniu leczenia. Obecnie, w badaniach nad patogenezą i progresją nowotworów coraz większą uwagę przywiązuje się do roli mikrośrodowiska guza, w którego skład w dużej części wchodzi komórki układu immunologicznego. Obecnie przyjmuje się, że istotna część tych prawidłowych komórek może zostać przeprogramowana przez komórki rakowe, przez co



mogą one sprzyjać rozwojowi guza. Dlatego poznanie zależności guz-mikrośrodowisko jest ważnym elementem w lepszym zrozumieniu biologii nowotworu i udoskonalaniu strategii terapeutycznych. Doktorantka podejmując się analizy zmian w układzie immunologicznym i ich korelacji z rokowaniem w przebiegu ACC wpisuje się w ten nurt badań. Celami szczegółowymi były: (i) analiza ilości i rodzaju limfocytów T naciekających mikrośrodowisko ACC oraz (ii) ocena epigenetycznych mechanizmów regulacji ekspresji genów w guzie pierwotnym, wznowie miejscowej i przerzucie odległym. Doktorantka skupiła się na analizie limfocytów T CD4+ i CD8+. Spośród regulatorów molekularnych, dokonała oceny wybranych podjednostek kompleksu remodelującego chromatynę SWI/SNF oraz kompleksów odpowiedzialnych za metylację RNA i splicing, ponieważ jak wskazała, >20% nowotworów posiada mutację w jednym z genów kodujących podjednostki tego kompleksu.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki wskazują, że rak gruczołowo-torbielowaty gruczołów ślinowych charakteryzuje się skąpym naciekiem limfocytarnym z przewagą limfocytów T CD4+ nad limfocytami cytotoksycznymi CD8+ w swoim mikrośrodowisku. Kandydatka zaobserwowała, że ten niski odsetek limfocytów T CD8+ naciekających środowisko guza koreluje z wysokim poziomem białka BRM, które jest kluczowym komponentem kompleksu remodelującego chromatynę. Wykazała, że zwiększony poziom białka BRM powoduje zaburzoną regulację struktury chromatyny i koreluje z niepomyślnym rokowaniem. Dodatkowo zauważyła, że zaburzenia białek odpowiedzialnych za proces metylacji RNA ulegają zwiększonej ekspresji w komórkach raka gruczołowo-torbielowatego gruczołów ślinowych, i że spośród analizowanych białek biorących udział w procesie metylacji wysoki poziom WTAP (Wilms' tumor 1-associated protein) również koreluje z niepomyślnym rokowaniem. Obserwacja ta czyni to białko potencjalnym „punktem uchwytu” dla opracowania schematów immunoterapeutycznych. Podobne badania dotychczas nie były prowadzone.



Praca jest doskonałym przykładem łączenia badań i wiedzy klinicznej z naukami podstawowymi w celu lepszego zrozumienia patomechanizmów odpowiedzialnych za rozwój i progresję choroby. Można oczekiwać, że otrzymane wyniki będą opublikowane w czasopiśmie naukowym o zasięgu międzynarodowym. Zgadzam się z Doktorantką, że pozyskana wiedza przybliży molekularne procesy związane z patogenezą ACC. W przyszłości dane te mogą się przyczynić do zrewidowania dotychczas stosowanych schematów rokowniczych i zaproponowania nowych terapii.

Wartość merytoryczna rozprawy

Dysertacja napisana w języku polskim zawiera wszystkie elementy pracy doktorskiej, tj. spis treści, wykaz skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp teoretyczny, cel pracy oraz wyniki. Pracę zamykają dyskusja, wnioski i bogate piśmiennictwo. Wprowadzenie do pracy jest rzeczowe i przystępnie przedstawione. Co ważne, z tak wyczerpująco napisanej sekcji wiedzę wyniosą nie tylko klinicyści i biolodzy, ale również osoby niezwiązane zawodowo z biologią medyczną. Potwierdza to, że doktorantka doskonale porusza się nie tylko w bliskich Jej z zawodowego punktu widzenia tematach klinicznych, ale również dysponuje rozległą wiedzą związaną z molekularnymi podstawami rozwoju raka. Cel pracy i cele szczegółowe zostały jasno zdefiniowane. Do badań użyto 48 próbek guzów od pacjentów z ACC. Materiał pochodził zarówno z guza pierwotnego, wznowy miejscowej oraz przerzutu odległego i został pozyskany z Narodowego Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie. W badaniach Doktorantka wykonała analizy immunohistochemiczne pobranego materiału. Przeanalizowała również dane kliniczno-patologiczne chorych, co pozwoliło opracować model wskazujący, który z badanych czynników jest istotny w analizie wielkoskalowej. Bazy Gene Expression Omnibus (GEO) stanowiły źródło danych do analiz mikromacierzy. Analizy bioinformatyczne zostały wykonane poprawnie przy pomocy oprogramowania statystycznego R, z przyjętym poziomem istotności równym 0,05. Wyniki przedstawione są czytelnie w postaci 29 tabel



i 18 rysunków. Otrzymane rezultaty zostały odpowiednio przeanalizowane i przedyskutowane. Doktorantka właściwie zinterpretowała uzyskane dane i krytycznie je przedyskutowała odnosząc się do danych literaturowych. Doktorantka poprawnie sformułowała 10 wniosków.

Poprawność redakcyjna rozprawy

Układ pracy oraz styl oceniam pozytywnie. Praca jest napisana z zachowaniem właściwej terminologii. Pojawiające się błędy edytorskie nie wpływają na moją pozytywną ocenę całości dysertacji przedłożonej mi do recenzji.

Uwagi i pytania

Poproszę Doktorantkę o zapoznanie się z poniższymi komentarzami i odniesienie się do pytań 2-6.

1. Doktorantka nie ustrzegła się błędów edytorskich, np. str. 54: Tabela 2 – jest „odslonienczia” zamiast „odsłonięcia” oraz „mikrokacierzy: zamiast „mikromacierzy”.
2. Czy przypadki zaburzeń funkcji rybonukleazy nukleotydowej są częste w nowotworach? Czy efektem dysregulacji ekspresji tego genu może być tylko zmieniona proliferacja, czy również np. częstość mutacji/mutagenezy i jakie mogą być tego konsekwencje?
3. Czy tak jak w przypadku innych nowotworów, w ACC obserwuje się zjawisko nabywania wielolekooporności, zarówno na chemioterapeutyki, jak i inhibitory kinaz? Czy raczej jest to już cecha guza pierwotnego? Z czego to może wynikać/jakie jest podłoże molekularne tego zjawiska?
4. Zgoda Komisji Bioetycznej – dla formalności, proszę o krótkie potwierdzenie, że taka zgoda została uzyskana.
5. Czy przebieg ACC oraz prognoza/rokowanie w przypadku kobiet jest mniej korzystne niż w przypadku mężczyzn?
6. Ciekawe zależności są zaprezentowane na wykresach skrzynkowych dla WTAP i METTL14 Hscore w podziale wg typu guza (Rys. 24 i 25). Dane wskazują, że badani



z guzem pierwotnym oraz wznową, mieli istotnie wyższy poziom tych białek w porównaniu do badanych z przerzutem. Czy Doktorantka może skomentować różnicę w poziomach tych białek w zależności od typu guza?

Wniosek końcowy

Rozprawę cechuje wysoki poziom naukowy, a wyniki uzyskane przy użyciu zaawansowanych technik biochemicznych i bioinformatycznych są interesujące i wnoszą nowe elementy do badań nad patogenezą raka gruczołowo-torbielowatego gruczołów ślinowych.

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska Pani lek. Katarzyny Stawarz pt. „Zmiany molekularne w raku gruczołowo – torbielowatym gruczołów ślinowych” w pełni spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani lek. Katarzyny Stawarz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Damian Gawel