GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

KATERDA I ZAKŁAD HISTOLOGII
80-211 Gdańsk, ul. Dębinki 1
tel. 0 58 349 14 37
e-mail: histolog@gumed.edu.pl

Gdańsk dnia 2.01.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Łukasza Jaśkiewicza

pt.: *„Lokalizacja i ekspresja akwaporyn (AQPs) w raku nie drobnokomórkowym płuca w podtypie histologicznym: rak gruczołowy (Adenocarcinoma)"*

Rak płuc jest drugim najczęściej diagnozowanym nowotworem i głównym powodem zgonu wśród chorób nowotworowych na świecie. Głównym czynnikiem ryzyka rozwoju raka płuc cały czas pozostaje palenie tytoniu (nawet dwudziestokrotnie zwiększone ryzyko w stosunku do osób niepalących), jednakże inne elementy również mają swój udział w progresji tej choroby. Śmiertelność w przebiegu raka płuc jest bardzo wysoka, stanowi 25% śmiertelności w innych nowotworach, dość powiedzieć, że więcej osób umiera na tego raka niż pacjentów z rakiem jelita grubego, piersi oraz gruczołu krokowego razem wziętych. Średnie 5-letnie przeżycie pacjentów jest niskie, gdyż większość raków wykrywanych jest w późnym stadium z odległymi przerzutami. Diagnostyka raka płuc cały czas jest w głównej mierze oparta o diagnostykę obrazową oraz ocenę histopatologiczną, lecz w ostatnich latach posiłkuje się profilowaniem genetycznym. Niezmiernie ważnym narzędziem pozostaje analiza białek w komórkach nowotworowych przy wykorzystaniu barwienia immunohistochemicznego. Umożliwia to wyznaczenie odpowiednich markerów nowotworowych określających rokowanie lub najlepszy model leczenia pacjenta, oraz charakterystycznych dla danego podtypu histologicznego raka płuc.

Przedstawiona praca doktorska lek. Łukasza Jaśkiewicza stanowi pewien etap poszukiwań nowego markera rokowniczego w najczęstszym typie histologicznym raka płuc, gruczolakoraku płuc (ADC). ADC ponadto charakteryzuje się najniższym 5-letnim przeżyciem pacjentów, głównie z uwagi na późną diagnozę choroby. Poszukiwanie nowych białkowych markerów nowotworowych w ADC Doktorant oparł na immunohistochemicznej analizie białek z rodziny akwaporyn, AQP3 i AQP4 w archiwalnym materiale biopsyjnym rutynowo pobieranym u pacjentów z podejrzeniem ADC. Wyniki zostały zebrane w jednej oryginalnej publikacji wydanej w 2022 roku w J. Clin. Med. Doktorant jest pierwszym autorem oraz współautorem korespondencyjnym w tej pracy.

Ostatnie doniesienia sugerują, iż akwaporyny mogą mieć istotne znaczenie w rozwoju szeregu nowotworów, takich jak czerniak, rak żołądka, płuc, piersi, przełyku czy też mózgu. Celem badań doktoranta było określenie, czy ekspresja AQP3 i AQP4 ma związek z przeżyciem

Dr hab. n. med. inż. Piotr Wierzbicki

pacjentów, zaawansowaniem choroby lub ma związek z innymi danymi kliniczno-patologicznymi pacjentów. Badania IHC były prowadzone na próbach od 79 chorych na ADC oraz niewiadomej liczbie pacjentów stanowiących kontrolę. Intensywność oraz liczbę pozytywnie wybarwionych komórek niezależnie oceniało 2 doświadczonych patologów, uzyskując parametryczną (w skali 0-9) ocenę immunoekspresji białek w tkance. Prawidłowo zastosowano i udowodniono właściwe reakcje IHC na podstawie reakcji pozytywnej (ludzka nerka lub żołądek) lub negatywnej (brak przeciwciała pierwotnego, podbarwione hematoksyliną). Do analizy uzyskanych wyników zastosowano odpowiednie testy statystyczne, poprzedzając je analizą normalności rozkładu. Pewne zastanowienie budzi fakt braku odchyleń statystycznych w klasyfikacji wyników 0-9 w stosunku do całych komórek lub ich kompartmentów (plazmalemma/jądro, Fig. 3). Oznaczałoby to całkowitą zgodność w ocenie patologicznej tkanek, stąd rodzi się pytanie recenzenta czy tak było w istocie?

Stabelaryzowane wyniki potwierdzają, iż kluczowym aspektem klinicznym w ocenie przeżycia jest stopień zaawansowanie klinicznego ADC, ze szczególnym uwzględnieniem obecności przerzutów odległych. Inne czynniki, również wyniki molekularne, mają mniejsze znaczenie. Pomimo wykazania braku wpływu ekspresji AQP3 i AQP4 na przeżycie pacjentów, ciekawą obserwacją jest obniżenie ekspresji błonowej AQP4 w ADC, w bardziej zaawansowanych stadiach choroby oraz zwiększenie AQP4 u tych pacjentów w obrębie jąder komórek nowotworowych. Może to stanowić pewien punkt zaczepienia do dalszych badań w raku płuc. Z kolei w przypadku AQP3, brak powiązań wyników IHC z innymi danymi może potwierdzać obserwacje innych autorów o nieznacznym udziale tego białka w rozwoju ADC. Pewną wątpliwość recenzenta budzi obserwacja, iż u 100% prób kontrolnych (N nieznane) stwierdzono wysoką lub bardzo wysoką ekspresję AQP3, natomiast w ADC odsetek komórek z wysoką ekspresją był mniejszy (65 % przypadków). Rodzi to więc pytanie, czy AQP3 nie ulega obniżeniu w ADC, a nie podwyższeniu jak mogłoby się wydawać na podstawie streszczenia doktoratu oraz abstractu załączonej publikacji. W związku z tym przyszłościowo proponuję ponowne przeliczenie tabeli 3 z testem HR Coxa, gdzie wysoki poziom AQP3 ustawiony byłby na referencję, a nie niski. Może uzyskano by ciekawsze wyniki? Pomimo tych niewielkich uwag, przedstawione wyniki stanowić mogą ważne dane dla kolejnych etapów badań molekularnych nad udziałem akwaporyn w ADC, wraz z możliwością testowania modulacji ekspresji lub blokerów akwaporyn w liniach komórkowych raka płuc lub na modelu zwierzęcym.

Reasumując, stwierdzam, iż przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pana lek. Łukasza Jaśkiewicza w rzetelny sposób dokumentuje przeprowadzone przez Niego badania oraz spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych w art 187 Ustawy Prawo o Szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz.U. 2018 poz. 1668).

Dr hab. n. med. inż. Piotr Wierzbicki

KATERDA I ZAKŁAD HISTOLOGII
80-211 Gdańsk, ul. Dębinki 1
tel. 0 58 349 14 37
e-mail: histolog@gumed.edu.pl

Wnioskuję zatem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego o przeprowadzenie dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych lekarzowi Łukaszowi Jaśkiewiczowi.

Katedra i Zakład Histologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
dr hab. n. med. inż. Piotr M. Wierzbicki

Dr hab. n. med. inż. Piotr Wierzbicki

Katedra i Zakład Histologii GUMed