



Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Katedra Perinatologii i Ginekologii
Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych
Department of Perinatology and Gynecology
Poznan University of Medical Sciences
Division of Perinatology and Women's Diseases

Prof. dr hab. Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz

Poznań, 22.03.2018.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ PT.:
EKSPRESJA IZOFORM VEGF, ICH RECEPTORÓW ORAZ WYBRANYCH BIAŁEK
WSPÓŁPRACUJĄCYCH W PROCESIE ANGIOGENEZY W GRUCZOLAKORAKU ENDOMETRIUM
Kobiet
LEK. MAŁGORZATY KASPRZYK-ŻYSZCZYŃSKIEJ

Rak endometrium jest jednym z najczęstszych nowotworów u kobiet, występującym w wieku rozrodczym oraz po menopauzie. Z drugiej strony jest czwartym w kolejności rodzajem raka występującego u kobiet (po raku piersi, płuc oraz jelita grubego). Szczególnie często opisywany jest u kobiet z grup ryzyka w krajach wysoko rozwiniętych. Również w Polsce odnotowuje się stały wzrost liczby zachorowań na raka endometrium. Stąd w wielu ośrodkach prowadzone są intensywne badania dotyczące biologii tego nowotworu. Znany jest dualistyczny model kancerogenezy w endometrium, czynniki ryzyka oraz czynniki prognostyczne w przebiegu nowotworu. Wiele uwagi poświęca się również na zrozumienie mechanizmów molekularnych biorących udział w etiopatogenezie nowotworzenia w raku endometrium. Wydaje się, że dopiero ta wiedza pozwoli na lepsze zrozumienie patofizjologii tego nowotworu, jak również na zwiększenie efektów terapii i polepszenia rokowania w tej grupie kobiet.

W świetle powyższego uważam, że lek. Małgorzata Kasprzyk-Żyszczyńska podjęta niesłychanie istotny temat z zakresu neoangiogenezy i jej znaczenia zarówno w patogenezie, jak i w progresji raka endometrium. Zasadniczym celem pracy była ocena ekspresji izoform czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) oraz ich receptorów w raku endometrium. Cel ten realizowano poprzez ocenę ekspresji izoform VEGF: A, B, C, D oraz ocenę ekspresji receptorów: R1, R2, R3 dla izoform VEGF w kontroli oraz w różnych stadiach zaawansowania raka endometrium. Dodatkowo oceniano ekspresję endogliny, neuropiliny-

AS

1, neuropiliny-2, EDIL-3 oraz HOXA-5 jako białek różnicujących różne stadia złośliwości w odniesieniu do kontroli.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja ma układ typowy dla tego rodzaju opracowań i składa się z następujących rozdziałów: Wstęp, Założenia i cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Literatura, Streszczenie w języku polskim i angielskim. W całości rozprawa zawarta jest na 112 stronach.

We Wstępie Doktorantka skupia się na omówieniu procesu angiogenezy ze szczególnym podkreśleniem roli VEGF i jego receptorów na komórkach nowotworowych oraz rozwoju naczyń krwionośnych i limfatycznych w guzie nowotworowym. Dużo uwagi poświęciła również na omówienie funkcji zależnych od VEGF w komórkach nowotworowych. W dalszej części Autorka przedstawia etapy rozwoju raka endometrium, omawia jego typy, klasyfikację, etiopatogenezę oraz procesy angiogenezy w raku endometrium. Następnie podkreśla znaczenie zaangażowanych w proces angiogenezy guzów nowotworowych białka HOXA-5 i neuropilin będących ko-receptorami dla VEGF, markera proliferujących komórek śródbłonna naczyniowego jakim jest endogлина, oraz białka macierzy pozakomórkowej EDIL-3 wydzielanego przez komórki śródbłonna. Wstęp bardzo dobitnie świadczy o przygotowaniu merytorycznym lek. Małgorzaty Kasprzyk-Żyszczyńskiej do prowadzenia zaplanowanych badań.

Materiałem do badań były preparaty tkankowe wykonane z bloczków parafinowych zdeponowanych w Pracowni Patomorfologii Beskidzkiego Centrum Onkologii w Bielsku-Białej. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego (KNW/0022/KB/237/16). Do badań Doktorantka włączyła preparaty tkankowe 19 pacjentek z nowotworem endometrium w stadium G1, 17 pacjentek w stadium G2 oraz 15 pacjentek w stadium G3. Grupę kontrolną stanowiły preparaty pobrane od 15 pacjentek z przyczyn nienowotworowych. W pracy zastosowano prawidłowe kryteria włączenia i wyłączenia. Analizowane preparaty barwiono immunohistochemicznie z wykorzystaniem przeciwciał specyficznych dla określonych epitopów. Przeprowadzone badania immunohistochemiczne, archiwizacja danych oraz ocena reakcji immunohistochemicznej opisane zostały bardzo starannie. Zastosowano również prawidłowe metody analizy statystycznej.



W toku badań Autorka uzyskała interesujące wyniki. Analiza wyników dotyczących izoform VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C pokazała ekspresję tych białek w komórkach zrębu w kontroli oraz w komórkach gruczolakoraka w poszczególnych stadiach nowotworu. Poziom VEGF-A, VEGF-D był najwyższy w stadium G3, poziom VEGF-B był najwyższy w stadium G2, natomiast w przypadku izoformy VEGF-C nie odnotowano żadnej reakcji barwnej, zarówno w kontroli jak i w preparatach pochodzących od kobiet z nowotworem. Ekspresję receptorów VEGF-R1, VEGF-R2 oraz VEGF-R3 ujawniono zarówno w komórkach gruczolakoraka, jak i w komórkach zrębu w kontroli. Ekspresja wszystkich badanych rodzajów receptorów VEGF-R1, VEGF-R2 oraz VEGF-R3 była najwyższa w stadium G3 raka endometrium.

Nie mniej ciekawe obserwacje dotyczyły białek różnicujących różne stadia złośliwości raka endometrium. W komórkach nowotworowych ekspresja neuropiliny NRP-1 była najwyższa w stadiach G2 oraz G3, natomiast NRP-2 w stadium G3. Zaobserwowano również ekspresję NRP-2 w śródbłonku naczyńowym i była ona najwyższa w stadium G3. Ekspresję endogliny odnotowano w komórkach śródbłonka pochodzących z preparatów w grupie kontrolnej oraz w komórkach śródbłonka z preparatów nowotworowych, gdzie była wysoka w stadium G1 oraz G3. W samych komórkach nowotworowych ekspresja endogliny była najwyższa w stadium G3. Ekspresję białka EDIL-3 obserwowano w próbkach kontrolnych oraz w komórkach nowotworowych, gdzie ekspresję EDIL-3 na najwyższym poziomie pokazano w stadium G2 oraz G3. Ekspresja białka HOXA-5 wyrażona była w próbkach kontrolnych oraz w komórkach nowotworowych tylko w stadium G1.

Jednym z najistotniejszych fragmentów omawianej rozprawy jest Dyskusja, w której rzetelnie porównano rezultaty zawarte w omawianej rozprawie z obserwacjami i wnioskami uzyskanymi przez innych autorów. W Dyskusji dużo miejsca Doktorantka poświęca wskazaniu potrzeby identyfikacji nowych markerów, które mogą być wykorzystywane w terapii celowanej u kobiet z nowotworami. Wskazuje również, że przeprowadzone badania mogą mieć znaczenie w przyszłości w rozwoju terapii wpływając na ograniczenie procesów angiogenezy w guzach nowotworowych i przyczyniając się do zahamowania progresji guza *de novo*.



Wnioski, w liczbie 6, są logicznym podsumowaniem przeprowadzonych badań. Najważniejsze z nich wskazują na zakłócenia limfangiogenezy poprzez zaburzenia ekspresji izoform VEGF, ich receptorów oraz pokazują udział neuropilinny NRP-1 oraz NRP-2 w szlaku uzupełniającym limfangiogenezę. Ponadto wskazano na znaczenie endogliny we wzroście guza oraz białka EDIL-3 w przebudowie i rozwoju ściany naczynia guza nowotworowego.

W przeglądzie piśmiennictwa Doktorantka zgromadziła aż 347 pozycji, w większości są to publikacje danych z ostatnich kilkunastu lat. Dodatkowo rozprawę zaopatrzone w streszczenie w języku polskim oraz angielskim.

Podsumowując podkreślić należy, że w rozprawie Doktorantka przedstawiła spójnie zaplanowane badania dotyczące istotnego problemu klinicznego. Dysertacja prezentuje wysoki poziom merytoryczny i bez wątpienia stanowi cenny wkład w poznanie patofizjologii rozwoju raka endometrium. Wartością przedstawionej rozprawy jest wskazanie przez Doktorantkę klinicznego zastosowania przeprowadzonych badań, jak identyfikacja markerów, mogących mieć zastosowanie w terapii ukierunkowanej i potencjalnej wartości terapeutycznej takiego postępowania, jak poprawa przeżycia pacjentek, spowolnienie progresji nowotworu, a w efekcie także redukcja kosztów leczenia raka endometrium. Wszystko to wpływa na całościowy dobry odbiór omawianej dysertacji.

Podjęcie stale aktualnego tematu z zakresu nowotworzenia, zastosowanie poprawnych metod badawczych, właściwa umiejętność dyskusji tematu i prawidłowość wnioskowania składa się na rzetelne opracowanie uzyskanych wyników i przedstawienie ciekawych wniosków. W związku z powyższym mam zaszczyt złożyć wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o dopuszczenie lek. Małgorzatę Kasprzyk-Żyszczyńską do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.

