Dr hab. med. Mariusz Koda
Zakład Patomorfologii Ogólnej
Wydział Nauk o Zdrowiu
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Białystok, 30.09. 2019

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Anny Glajcar pod tytułem:
''Ocena mikrośrodowiska nowotworowego w różnych podtypach molekularnych raka piersi''
wykonanej w Katedrze Patomorfologii UJ CM,
pod kierownictwem dr hab. n. med. Krzysztofa Okonia, prof. UJ
oraz dr n. med. Joanny Szpor

Rozwój guza nowotworowego jest procesem wieloetapowym, w którym istotną rolę odgrywa odpowiedź immunologiczna. Lokalny mechanizm immunologicznej obrony przeciw-nowotworowej warunkuje tworzenie oraz organizację mikrośrodowiska guza nowotworowego. Mikrośrodowisko guza nowotworowego składa się ze złożonej mieszaniny komórek nienowotworowych, w tym fibroblastów, komórek odpornościowych i komórek śródbłonka osadzonych w białkach macierzy zewnątrzkomórkowej. Mikrośrodowisko guza odgrywa aktywną rolę w zachowaniu nowotworu. Oddziałując z komórkami nowotworowymi, wpływa na progresję choroby i zdolność przerzutową guza. Mikrośrodowisko guza nowotworowego może znacznie się różnić w obrębie jednej grupy nowotworów w danej lokalizacji, zarówno pod względem ilości składowych jak ich właściwości. Potwierdza to fakt heterogenności guza nowotworowego. Istotną rolę w tym procesie odgrywają komórki zapalne występujące bezpośrednio w otoczeniu guza: limfocyty oraz mastocyty. Doniesienia literaturowe wskazują, że obfitość nacieku limfocytów T jest decydującym czynnikiem prognostycznym odpowiedzi na chemioterapię i immunoterapię u pacjentów z nowotworami, zwłaszcza we wczesnych stadiach choroby, gdzie pacjenci mają silną odpowiedź efektorowych komórek T i częściej prezentują wysoką odporność immunologiczną. W ten nurt doskonale wpisuje się cykl prac stanowiący rozprawę doktorską opracowaną przez mgr Annę Glajcar, poświęconych ocenie gęstości nacieku wybranych populacji komórek stanu zapalnego (mastocytów chymazo- i tryptazo-dodatnich, limfocytów T i B, komórek NK, komórek cytotoksycznych, regulatorowych i limfocytów pomocniczych Th2 w pierwotnych inwazyjnych guzach piersi.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska liczy 68 stron i obejmuje: wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, streszczenie w języku polskim i angielskim wraz ze wstępem oraz omówieniem publikacji składających się na rozprawę, kserokopie trzech publikacji oraz informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach. Uwagę zwraca brak piśmiennictwa we wstępie pracy, które mogłoby ułatwić dokładniejsze zapoznanie się z tematyką pracy.

Rozprawę doktorską mgr Anny Glajcar stanowi spójny tematycznie cykl trzech artykułów naukowych opublikowanych w renomowanych czasopismach: 1- Glajcar A, Szpor J, Pacek A, Tyrak KE, Chan F, Streb J, Hodorowicz-Zaniewska D, Okoń K. The relationship between breast cancer molecular subtypes and mast cell populations in tumor microenvironment. Virchows Arch. 2017 May;470(5):505-515; 2- Glajcar A, Szpor J, Hodorowicz-Zaniewska D, Tyrak KE, Okoń K. The composition of T cell infiltrates varies in primary invasive breast cancer of different molecular subtypes as well as according to tumor size and nodal status. Virchows Arch. 2019 Jul;475(1):13-23. (IF= 2.868); 3- Glajcar A, Szpor J, Tyrak KE, Streb J, Hodorowicz-Zaniewska D, Okoń K. Lymphoid environment in molecular subtypes of breast cancer. Pol J Pathol. 2018;69(2):169-181 (IF= 0.664). Łączna wartość IF publikacji wchodzących w skład niniejszej rozprawy wynosi 6,4. Wysoki sumaryczny IF wskazuje, że badania zostały właściwie zaplanowane i przeprowadzone przez Doktorantkę, a także prezentują wysoki poziom naukowy. Przedłożone publikacje wskazują na znaczący udział Doktorantki w powstaniu poszczególnych prac, czego wyrazem jest pozycja pierwszego autora w opracowaniach zbiorowych oraz załączone oświadczenia współautorów publikacji. Doktorantka odegrała wiodącą rolę w opracowaniu koncepcji naukowej prac, ocenie liczebności analizowanych komórek zapalnych w materiale tkankowym, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptów do publikacji. Załączone kserokopie publikacji zawierają szczegółowo opisaną metodykę, analizę oraz interpretację wyników, a także nie budzą pod względem merytorycznym żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale ''Wstęp'' Autorka rozprawy krótko wyjaśnia skład mikrośrodowiska guza nowotworowego oraz jego interakcje z komórkami nowotworowymi. Następnie przedstawia charakterystykę inwazyjnego raka piersi, ze szczególnym uwzględnieniem podziału na molekularne podtypy ustalone zgodnie z zaleceniami St. Gallen. Lektura tego rozdziału wskazuje na bardzo dobrą znajomość problematyki tematu niniejszej rozprawy doktorskiej. Jednakże, zważając na fakt, iż liczne doniesienia literaturowe wykazują istotne znaczenie wzajemnych interakcji pomiędzy mikrośrodowiskiem guza a komórkami nowotworowymi,

wartościowe było by uzupełnienie tego rozdziału o bardziej szczegółowe informacje dotyczące roli komórek zapalnych w układzie immunologicznym, jak również w procesie nowotworzenia. W oparciu o powyższe zagadnienia Doktorantka sformułowała następujące cele: określenie różnic w gęstości nacieku wybranych populacji komórek stanu zapalnego w zależności od podtypu molekularnego raka piersi, ekspresji markerów białkowych o znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym w raku piersi oraz występowania innych parametrów anatomoopatologicznych o znaczeniu rokowniczym. Do realizacji założonych celów Autorka rozprawy pozyskała materiał tkankowy z guza pierwotnego od ponad 100 pacjentek z pierwotnym inwazyjnym rakiem piersi. W celu określenia gęstości poszczególnych populacji komórek zapalnych w wycinkach tkankowych wykonano barwienia metodą immunohistochemiczną w kierunku ekspresji białek: chymazy, tryptazy, CD45RO, CD20, CD56, CD8, FOXP3 oraz GATA3. Ponadto, dokonano korelacji poszczególnych subpopulacji komórek zapalnych w odniesieniu do podtypów molekularnych raka piersi i dobrze znanych czynników prognostycznych i predykcyjnych. Dokładny opis analizy komórek zapalnych pod mikroskopem świetlnym świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki.

W oparciu o przeprowadzone badania Autorka rozprawy m. in. wykazała: obecność gęstszego nacieku z mastocytów i mniej intensywnego nacieku z limfocytów T, B i komórek NK w guzach o fenotypie luminalnym A i B; występowanie większej ilości komórek cytotoksycznych i regulatorowych we froncie inwazji guzów o podtypie HER2-dodatnich nieluminalnych i TNBC; nadekspresja HER2 towarzyszyła guzom ze zwiększoną gęstością nacieku zapalnego złożonego z limfocytów T, limfocytów B, cytotoksycznych i regulatorowych; gęstszy naciek z limfocytów T, B, NK oraz mniejszy naciek z mastocytów zaobserwowano w guzach o wyższym indeksie Ki-67, większej średnicy oraz większym stopniu złośliwości histologicznej.

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka przedstawiła następujące wnioski: 1. Różnice w nacieku poszczególnych komórek zapalnych oraz korelacje z ekspresją ER, PR, Ki-67 wskazują na związek mastocytów z występowaniem podtypów raka piersi o łagodniejszym przebiegu klinicznym, podczas gdy bardziej obfity naciek komórek limfoidalnych i zwiększony stosunek komórek regulatorowych/ Th2 związane są z występowaniem podtypów cechujących się agresywnym przebiegiem choroby, 2. Różnice w nacieku analizowanych komórek wskazują na związek mastocytów z występowaniem korzystnych czynników rokowniczych oraz odwrotną zależność w stosunku do nacieków komórek limfoidalnych, cytotoksycznych i regulatorowych; 3. Odmienne zależności obserwowane dla populacji komórek zapalnych

zlokalizowanych wewnątrz guza lub na jego krawędzi wskazują na odmienną rolę tych komórek w patogenezie raka piersi; 4. Różnice w gęstości poszczególnych subpopulacji limfocytów T obserwowane pomiędzy luminalnymi i nieluminalnymi inwazyjnymi guzami piersi o różnym stopniu zaawansowania klinicznego choroby. Sformułowane przez Doktorantkę wnioski bezpośrednio wynikają ze szczegółowej analizy wyników w czasie realizacji badań.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa mgr Anny Glajcar charakteryzuje się trafnością wyboru tematu i innowacyjnością. Cel pracy został w pełni zrealizowany, a uzyskane wyniki stanowią oryginalne osiągniecie Doktorantki. Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa mgr Anny Glajcar spełnia wszystkie ustawowe wymogi i kryteria jakie powinna spełniać praca na stopień doktora nauk medycznych. Dlatego też, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum o dopuszczenie mgr Anny Glajcar do dalszego etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Mariusz Koda