

Warszawa, 23.12.2015 r.

Dr. hab. n. med. Lucjan Wyrwicz, prof. nadzw. COI
Samodzielna Pracownia Bioinformatyki i Biostatystyki
oraz Klinika Gastroenterologii Onkologicznej
Centrum Onkologii – Instytut
im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie
02-781 Warszawa, ul. Roentgena 5

Recenzja dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej pani dr. n. med. Katarzyny Jarząbek w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w oparciu o dzieło pt. „Molekularne biomarkery w procesie nowotworzenia w gruczole sutkowym i endometrium“

1. Analiza dorobku wnioskodawcy

Dr n. med. Katarzyna Jarząbek jest diagnostą laboratoryjnym o szerokich zainteresowaniach naukowych i zawodowych. Od czasu uzyskania dyplomu magistra biologii w 2000 roku na Uniwersytecie Gdańskim (Wydział Biologii, Geografii i Oceanografii) realizuje badania z zakresu regulacji rozwoju raka piersi i gruczołu piersiowego. W latach 2000-2004 przygotowała pracę doktorską dot. ekspresji ERa i ERb oraz aromatazy w guzach raka piersi w porównaniu z otaczającymi guz tkankami pochodzenie nienowotworowego w ramach Studiów Doktoranckich na Akademii Medycznej w Białymstoku.

Następnie – po obronie doktoratu wnioskodawczyni rozwija swój warsztat naukowy na rozlicznych stażach – w tym stażach zagranicznych. Niestety ten etap kariery nie jest mocno powiązany z tematyką cyklu prac przedstawionych do oceny jako dzieło. W trakcie kolejnych 3 lat po obronie doktoratu, odbywa staż z zakresu diagnostyki zaburzeń wrodzonych. Od kilkunastu lat – tj. od podjęcia w 2000 r. pracy nad zagadnieniem ekspresji wybranych białek w nowotworach – wnioskodawca zajmuje się podstawowymi technikami biologii molekularnej i immunohistochemii. W tym przedmiocie udało się opracować szereg prac, które opisują rozmaite aspekty biologii nowotworów za pomocą tych narzędzi.

W kolejnych latach po powrocie ze staży – wnioskodawca kontynuuje tematy diagnostyki molekularnej u pacjentów z zespołami genetycznie uwarunkowanych zaburzeń płodności oraz badania nad patogenezą fenotypu w przebiegu zespołu Downa. Te trzy kierunki badań są dość szczegółowo opisane w autoreferacie.

Mając na względzie długość kariery naukowej **dorobek naukowy** jest adekwatny. Trudno jest jednak określić bezpośrednią wartość dodaną wnioskodawcy w realizowanych pracach. W dorobku dominują prace zawierające zwykle ponad 5 autorów, skład zespołu autorskiego jest zbliżony w wielu pracach. Wg. oświadczeń współautorów prac cyklu obejmującego oceniane dzieło należy wnioskować, iż większość tych osób to naukowcy z tytułem naukowym lub stopniem doktora habilitowanego. Rodzi więc to pytanie czy dostatecznie przykładana jest w zespole wnioskodawcy uwaga na szkolenie młodych adeptów nauki (vide także opis doświadczeń organizacyjnych omówiony poniżej; nie jest to jednak ustawowy przedmiot oceny dorobku kandydata). Choć być może ponownie nie jest to argument w ocenie dorobku naukowego doktora habilitowanego i powinniśmy wyłącznie oceniać dorobek dotyczący dzieła naukowego – to należy zauważyć, iż dzieło przedstawione do recenzji nie stanowi monografii a nawet nie jest związane z jednym tematem (chyba że uwzględnimy że jest to cykl tematyczny dotyczący ogólnie „raka“ i ogólnie „immunohistochemii“), tak więc w niniejszym postępowaniu recenzent jest zmuszony pośrednio do oceny warsztatu naukowego Katedry i zespołu badawczego współpracującego z wnioskodawcą (ponieważ wszystkie elementy dzieła powstają ogólnie rzecz biorąc w tym samym zespole ludzkim). Jest sytuacją wielce niekomfortową dla recenzenta, oceniać dorobek osobisty wspólny stworzony w takich warunkach. I choć nie istnieje dla takich sytuacji jednolity miernik jakości wyników naukowych to pomijając metodykę takiego pomiaru to **dorobek naukowy należy określić na odpowiedni dla przedmiotowego postępowania**. Uwadze Rady pozostawiam pytanie retoryczne: czy powinniśmy uzyskany dorobek dzielić przez stałą liczbę współautorów? Bibliometrycznie rzecz biorąc – to nie, naukowo lub licząc faktyczny wpływ wkładu pracy poszczególnego autora na dziedzinę to chyba tak; proceduralnie uznajemy ten dorobek każdemu ze współautorów zespołu autorskiego. Niestety dzieląc przedmiotowe dzieło na liczbę stałych współpracowników, którzy współuczestnili w pracy, uzyskamy dość niską wartość mierników bibliometrycznych.

Dorobek dydaktyczny wnioskodawcy jest nieznaczący. został omówiony w autoreferacie. Zakładając, iż mamy do czynienia z adiunktem na uczelni wyższej jest to dość zaskakujące.

Także **dorobek organizacyjny** wnioskodawcy nie jest wyróżniający. Wnioskodawczyni była przed laty członkiem zespołów organizacyjnych lokalnych konferencji naukowych. Zakładając, iż stopień doktora habilitowanego w uczelni wyższej jest równoważny z możliwością promowania własnych tematów badań – mając na względzie rzetelną ocenę autoreferatu kandydata byłoby uzasadnione prezentowanie liczby prowadzonych doktoratów (wg formuły promotora pomocniczego), promowanych prac magisterskich czy kierowanych projektów grantowych – w tym grantów wewnętrznych.

Dorobek popularyzatorski w rozumieniu Ustawy o stopniach i tytule naukowym nie został przedstawiony do oceny recenzenta.

W autoreferacie wskazano na istotny **udział wnioskodawcy w rozwijaniu międzynarodowej współpracy naukowej** (art. 16 ust. 4 Ustawy o stopniach i tytule naukowym) – w szczególności współpracy z zespołami z Francji – w ramach projektu MNiSW Polonium.

Pod względem rozpoznania naukowego – wg stanu bazy **SCOPUS** na dzień 23.12.2015 – prace dr. Jarząbek były cytowane 331 razy (wykluczając autocytowania). Całość wiąże się z średnim jak na rangę postępowania wskaźnikiem cytowań – tzw. wskaźnikiem Hirscha na poziomie 10, którego interpretacja jest dość prosta: 10 publikacji z udziałem autora było cytowanych minimum 10 krotnie. Wg bazy **Web of Science** prace wnioskodawczyni były cytowane ok 48 razy. Nie potrafię uzasadnić rozbieżności między tymi wynikami. Mając na względzie długość kariery naukowej, dorobek ten trudno jest uznać za wybitny, czy nawet wyróżniający na skalę krajową.

2. Recenzja rozprawy habilitacyjnej

Rak piersi i rak endometrium są chorobami nowotworowymi stanowiącymi istotny problem kliniczny i społeczny. W odniesieniu do raka piersi – w ostatnich latach obserwowany jest lawinowy wzrost informacji na temat biologii tego nowotworu i co za tym idzie stopniowa poprawa wyników odległych – tj. poprawa wyleczalności w przypadkach mniej zaawansowanych i poprawa długości przeżycia w przypadku pacjentek z przerzutowym rakiem piersi. Przykładowo – zastosowanie leczenia pooperacyjnego i skutecznego leczenia w przypadku nawrotu zdecydowanie poprawia rokowanie w przypadku ekspresji receptorów estrogenowych/progesteronowych do tego stopnia, iż w każdym zestawieniu klinicznym konieczne jest wyróżnienie tej cechy molekularnej komórki nowotworowej dla właściwej interpretacji. Także status ekspresji genu HER2 posiada istotne implikacje kliniczne, które prowadzą do tego, iż ten podtyp nowotworu powinien być wyróżniany także w pracach z kręgu biologii nowotworów. Dodatkowo – uwzględniając także cechy „agresywności“ biologicznej wskazuje się na agresywność choroby, co pośrednio wskazuje na wskazania do chemioterapii i rokowanie.

Podobne – choć mniej zaznaczone – trendy obserwuje się w raku endometrium. Obecnie nie mamy jeszcze do czynienia z powszechnie akceptowaną klasyfikacją molekularną tego nowotworu, ale zakłada się istnienie czterech podtypów raka endometrium (związany z istnieniem mutacji genu POLE lub innych genów związanych z fenotypem hypermutacji, rak z niestabilnością mikrosatelitarną, rak z niską i wysoką liczbą aberracji chromosomalnych). Tym samym opracowanie nowej wiedzy w tym zakresie jest pożądane i powinno być promowane.

Podział nowotworu na kilka podtypów molekularnych determinuje szereg problemów metodologicznych. Jeśli w uproszczeniu przyjmiemy, iż określona choroba dzieli się na 4 podklasy o równej liczebności i badać będziemy wzajemne relacje 2 czynników biologicznych wg metodologii przyjętej przez wnoszkodawczynię (czyli: „ekspresja czynnika 1 stwierdzona“, „ekspresja czynnika 2 stwierdzona“, „istnieje związek ekspresji 1 i 2“, „brak stwierdzanego związku ekspresji między 1 i 2“). Zakładając, iż idealistycznie znajdziemy wysoce istotny związek między czynnikami, które badamy (tj. testy nieparametryczne typu test Chi2 pozwoliłyby na wskazanie nieprzypadkowości naszych obserwacji) – możemy mieć do czynienia z tak paradoksalną sytuacją:

	Grupa badana (n)	Ekspresja 1 (n)	Ekspresja 2 (n)	„asocjacja między 1 i 2“
Podtyp A	10	0	10	„odwrotna korelacja“
Podtyp B	10	0	0	pełna zgodność
Podtyp C	10	10	10	pełna zgodność
Podtyp D	10	10	0	„odwrotna korelacja“
Łącznie	40	20	20	całkowity brak związku w ekspresji 1 i 2

Tym samym łatwo dojść do wniosku, iż analizując wyłącznie ogólną grupę pacjentów (tj. grupa „łącznie“ z tabeli powyżej), bez typowania na podtypy mające znaczenie praktyczne, możemy ulec negatywnemu wrażeniu, iż określone czynniki biologiczne nie posiadają pewnych atrybutów przewidywalności swojej ekspresji. Pomijam w tych rozważaniach fakt, iż dla wielu receptorów (a tym typem białek zajmuje się wnoskodawczyni), obecność nasilonej ekspresji (kumulacja białka stwierdzana w badaniu immunohistochemicznym) może mieć znaczenie zgoła odwrotne, niż to się często sugeruje, ponieważ może oznaczać:

- 1) występowanie zaburzeń molekularnych samego receptora (vide ekspresja CD117 w przypadku GIST ze zmutowanym receptorem cKIT);
- 2) zjawisko wtórne (adaptacyjne) dla braku aktywnej sygnalizacji w tej lub innej pokrewnej ścieżce sygnałowej (vide ekspresja lub amplifikacja receptora MET jako surogatu innych zaburzeń molekularnych w pokrewnych ścieżkach sygnałowych w rozlicznych nowotworach i brak aktywności biologicznej zahamowania tej ścieżki);
- 3) losowy wpływ na biologię nowotworu (vide ekspresja EGFR a wynik leczenia blokadą anty-EGFR w raku jelita grubego).

Zakładając racjonalnie możliwie najlepszy wynik przedmiotowych analiz, możemy przyjąć, iż w analizie na małych podgrupach możemy identyfikować wyłącznie ogólne prawa biologiczne, które mają charakter obserwacji z kręgu biologii pierwotnej tkanki z której wywodzi się nowotwór – a nie samego nowotworu.

Na tym etapie należy nadmienić, iż dość sztucznym zabiegiem jest połączenie nowotworów piersi i narządu rodowego w jeden cykl publikacyjny. Pomimo oczywistego pierwiastka wspólnego to pod względem biologicznym, molekularnym czy także pod względem klinicznym są to nowotwory odmienne (sposób leczenia systemowego,

biomarkery, dynamika choroby, zasady leczenia onkologicznego). W związku z tym omawiając poszczególne prace zostaną one ocenione oddzielnie.

A. prace dotyczące biologii raka piersi

1. W publikacji pt. „The significance of the expression of ERR α as a potential biomarker in breast cancer“ wnioskodawczyni jest pierwszą z 6 autorów. Praca została opublikowana w *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* w 2009 roku. W pracy wykazano brak korelacji pomiędzy ekspresją ERR α i ER α , dodatnią korelację pomiędzy ERR α i c-myc na poziomie transkrypcyjnym oraz istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy ERR α i aromatazą na poziomie ilości białka. Analizowano łącznie 39 próbek guzów nowotworowych bez typowania na podtypy molekularne.

Wg bazy SCOPUS praca była cytowana 20 razy – tj. średnio 3 cytowania na rok kalendarzowy od momentu upublicznienia.

2. W publikacji pt. „KiSS1/GPR54 and estrogen-related gene expression profiles in primary breast cancer“ wnioskodawczyni jest pierwszą z 4 autorów. Praca została opublikowana w *Oncology Letters* w 2012 roku.

W pracy zabserwowano silną dodatnią korelację pomiędzy poziomem ekspresji genów KiSS1/GPR54, ER α , ER β , aromatazy i cykliny D1. Zobserwowano dodatnią korelację pomiędzy ekspresją ER α i receptorami progesteronu (PRs), w tych nowotworach odnotowano również dodatnią korelację pomiędzy mRNA KiSS1, GPR54 i cykliną D1 oraz białkiem ER α . Nowotwory piersi ER-dodatnie wykazywały wyższy poziom KiSS1 i GPR54 niż nowotwory ER-negatywne. Poziomy ekspresji transkryptów ER α i GPR54 były wyższe w umiarkowanie zróżnicowane nowotworach (G2) w porównaniu do nowotworów słabo zróżnicowanych wysokiego stopnia (G3). Stwierdzono ponadto, że status HER-2/neu w raku piersi jest ujemnie związany z ekspresją mRNA GPR54. Wyniki wskazują, że geny związane z systemem KiSS1/GPR54, tak jak w szlaku szlaku sygnalizacji estrogenowej, mogą być użyteczne w badaniach cząsteczkowych czynników rozwoju raka sutka. Analizowano łącznie 59 próbek guzów nowotworowych.

Wg bazy SCOPUS praca była cytowana 7 razy – tj. średnio 2 cytowania na rok kalendarzowy od momentu upublicznienia.

3. W publikacji pt. „Immunohistochemical study of KiSS1 and KiSS1R expression in human primary breast cancer: Association with breast cancer receptor status, proliferation markers and clinicopathological features“ wnioskodawczyni jest pierwszą z 5 autorów. Praca została opublikowana w *Histology and Histopathology* w 2015 roku.

W pracy pokazano, zwiększoną ekspresję białek KiSS1/KiSS1R i MMP-9 w tkankach nowotworowych w porównaniu z tkankami nienowotworowymi przyległymi do nowotworu piersi. W badanej grupie zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy KiSS1 i MMP-9. Wykazano również dodatnią korelację między ekspresją KiSS1R i aromatazy we wszystkich badanych rakach piersi. Nie zauważono żadnych zależności pomiędzy systemem KiSS1/KiSS1R i regulatorami cyklu komórkowego. Białka KiSS1/KiSS1R nie korelowały z cykliną D1, białkiem Ki-67 czy statusem receptorów. Jednakże, u pacjentów z przerzutami do węzłów chłonnych wykazano wyższe poziomy ekspresji KiSS1R w nowotworach ER α -ujemnych niż w przypadku ER α -pozytywnych. Zaprezentowane dane potwierdzają hipotezę jednorodnej aktywacji systemu KiSS1/KiSS1R w progresji raka piersi, która utrzymuje się podczas zajmowania lokalnych węzłów chłonnych.

Analizowano łącznie 54 próbki guzów nowotworowych.

Wg bazy SCOPUS praca nie była cytowana od momentu upublicznienia.

B. prace dotyczące biologii raka endometrium

1. W publikacji pt. „Estrogen-dependent regulation of PPAR- γ signaling on collagen biosynthesis in adenocarcinoma endometrial cells“ wnioskodawczyni jest drugą z 5 autorów. Praca została opublikowana w *Neoplasma* w 2009 roku.

W pracy stwierdzono wzrost poziomu biosyntezy kolagenu w komórkach w obecności estrogeny w medium hodowlanym (1 nM). Poprzez dodanie agonistów PPAR- γ , tj. troglitazonu oraz do medium hodowlanego uzyskano natomiast jego zahamowanie. Mechanizm hamowania zaobserwowano jedynie przy stymulacji receptora estrogenowego, podczas gdy usunięcie go poprzez degradację ICI 182,780 nie miało wpływu na biosyntezę kolagenu. Mechanizm hamowania został zaobserwowany na poziomie NF- κ B (znanego inhibitora ekspresji kolagenu) i szkalu sygnałowego kinazy MAPK. Po raz pierwszy udokumentowano iż hamujący wpływ ligandów na syntezę

kolagenu w komórkach rakowych endometrium wymaga funkcjonalnego receptora estrogenu.

Wg bazy SCOPUS praca była cytowana 4 razy – tj. średnio 0,5 cytowania na rok kalendarzowy od momentu upublicznienia.

2. W publikacji pt. „Altered expression of ERs, aromatase, and COX2 connected to estrogen action in type 1 endometrial cancer biology“ wnioskodawczyni jest pierwszą z 6 autorów. Praca została opublikowana w *Tumor Biology* w 2013 roku.

W celu zbadania mikrośrodowiska w stymulowanym estrogenem raku endometrium typu 1, w pracy dokonano oceny profili molekularnych i immunohistochemicznych w korelacji z cechami kliniczno-patologicznych receptorów estrogenu (ER), aromatazy i cyklooksygenazy II (COX2). Wszystkie badane guzy (51 preparatów), jak również preparaty zdrowych endometrium (16 preparatów), wykazywały ekspresję mRNA ER α , ER β i COX2. W pięciu próbkach raka endometrium i jednej zdrowego endometrium nie wykazano ekspresji mRNA aromatazy. Większość guzów wykazywało ekspresję ER α (82%), aromatazy (80%) i białka COX2 (88%). Czterdzieści jeden procent badanych guzów było ER β -ujemnych. ER α i ER β wykazały znacznie obniżony poziom ekspresji mRNA i białka w raku śluzówki macicy, w porównaniu do normalnej błony śluzowej macicy. Odwrotną tendencję wykazano w przypadku białka Cox2 i aromatazy. Stwierdzono dodatnią korelację ER α i COX2 zarówno na poziomie mRNA, jak i białka. Nie zaobserwowano dodatknej korelacji między ekspresją COX2 i aromatazy w komórkach rakowych. Na poziomie transkrypcyjnym zauważono dodatnią korelację pomiędzy ER β i ER α oraz ER β i COX2. Odnotowano ujemną korelację pomiędzy klasyfikacją patologiczną pT guzów pierwotnych oraz poziomem transkryptów ER α i ER β . Wykazano negatywną zależność pomiędzy ekspresją ER β i systemem oceny zaawansowania anatomicznego choroby Międzynarodowej Federacji ginekologii i położnictwa (FIGO). Stwierdzono iż rozwój raka endometrium typu 1 w obecności ER α oraz nadekspresji aromatazy i COX2 jest zależny od estrogenów. ER β został uznany za potencjalny marker w postępie choroby u pacjentek z rakiem endometrium.

W pracy badano 51 próbek nowotworowych i 16 próbek tkanek prawidłowych (bez typowania molekularnego)

Wg bazy SCOPUS praca była cytowana 3 razy – tj. średnio 1 cytowanie na rok kalendarzowy od momentu upublicznienia.

Reasumując, przedstawiona rozprawa stanowi mało zwarte dzieło naukowe oceniające metodami immunohistochemicznymi szereg potencjalnych czynników, które wnoiskodawczynie proponuje wiązać z patogenezą nowotworów. W przyszłości warto rozważyć rozszerzenie niniejszych badań na większą skalę (np. poprzez badania z korelacją ekspresji z wynikami leczenia lub obecności poszczególnych biomarkerów w podtypach molekularnych). Cykl prac przedstawiony do recenzji nie zawiera wybitnie nowatorskiej metodyki badawczej.

3. Podsumowanie

Mając na względzie uzyskane wyniki prowadzonych badań oraz dotychczasowy dorobek kandydatki, z uwzględnieniem pomniejszych mankamentów wspomnianych w recenzji, wnioskuję o dopuszczenie pani Katarzyny Jarząbek do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych.

Warszawa, 23.12.2015 r.

