

Uniwersytet Medyczny w  
Łodzi

Al. Kościuszki 4, 90-419 Łódź



UNIwersytet  
MEDYCZNY  
W ŁODZI

Zakład Patologii

Katedra Onkologii UMED Łódź

ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

tel. (42)272 56 01, fax. (42)272 56 04

Dr hab. n. med. Dorota Jesionek-Kupnicka

Łódź, 20.06.2022

Prof. UMED w Łodzi

Zakład Patologii Katedry Onkologii

Wydział Lekarski

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marcin Nizioł pt.: " Ocena immunohistochemiczna ekspresji białek adhezyjnych z rodziny tensyn w raku żołądka".**

Promotor Dr hab. n. med. Anna Pryczynicz z Zakładu Patomorfologii Ogólnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku oraz Promotor pomocniczy Dr n. med. Konrad Zaręba z II Kliniki Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Rak żołądka jest jednym z najczęstszych, po raku jelita grubego, nowotworem przewodu pokarmowego; pod względem zachorowalności na nowotwory złośliwe na świecie zajmuje 5. miejsce oraz 4. wśród umieralności, w Polsce zajmuje odpowiednio 6. oraz 5. miejsce u mężczyzn, nieco rzadziej występuje u kobiet. Ze względu na brak w pełni specyficznych objawów klinicznych oraz uznanego badania przesiewowego, choroba zostaje najczęściej rozpoznana w zaawansowanych stadiach klinicznych, co zmniejsza skuteczność leczenia i pogarsza rokowanie. Dlatego istotne są badania mające na celu identyfikację zmian w profilu molekularnym i biochemicznym specyficznych dla wczesnych stadiów progresji raka żołądka oraz nowych czynników prognostycznych i celów terapeutycznych. W ostatnich latach wiele badań skupia się wokół białek adhezyjnych jako potencjalnych czynników prognostycznych i punktów uchwytu terapii przeciwnowotworowych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana **mgr Marcina Nizioła**, porusza niezwykle istotne i złożone zagadnienia roli białek adhezyjnych w nowotworach, w tym w raku żołądka. Białka te odgrywają rolę w komunikacji między komórkami, która jest oparta na wiązaniach adhezyjnych oraz macierzą zewnątrzkomórkową, mających kluczowe znaczenie dla różnicowania komórek, utrzymania struktury morfologicznej, ich prawidłowego wzrostu, przekazywaniu sygnałów międzykomórkowych oraz pomiędzy komórką a macierzą pozakomórkową. Do głównych grup białek adhezyjnych zaliczane są: integryny, kadheryny, selektyny, nadrodzina immunoglobulin oraz CD44. Cząsteczki te odgrywają istotną rolę w procesach migracji, inwazji i przerzutowania komórek nowotworowych. W wyniku zmian w


oddziaływaniach adhezyjnych, komórki nowotworowe wykazują zaburzoną morfologię, która prowadzi do osłabienia ich adhezji i przyczynia się do nabywania potencjału przerzutowego. Do grupy białek adhezyjnych należy też rodzina tensyn, w skład której wchodzi cztery cząsteczki: tensyna 1 (TNS1), tensyna 2 (TNS2), tensyna 3 (TNS3) oraz tensyna 4 (TNS4/CTEN).

Białko TNS1 ma znaczenie dla prawidłowego procesu migracji komórkowej, jak też posiada zdolność supresji nowotworów poprzez hamowanie nadmiernej migracji komórek nowotworowych. Białko TNS2 reguluje m.in. szlak sygnałowy PI3K/Akt wpływając na procesy związane z proliferacją i migracją komórek. Jako ujemny regulator tego szlaku sygnałowego działa jako supresor rozwoju nowotworu. Z kolei TNS3 pełni istotną rolę w procesie powstawania nowotworu oraz przyczynia się do nabycia zdolności inwazyjnych przez komórki nowotworowe, w niektórych badaniach wyciszenie genu kodującego TNS3 powoduje zmniejszenie inwazyjności komórek nowotworowych. Funkcje biologiczne związane z ekspresją białka TNS4 obejmują procesy związane z motoryką komórek, apoptozą, homeostazą czynników wzrostowych i potencjałem onkogennym. Nadekspresja TNS4 przyczynia się do migracji komórek na drodze wiązania domeny PTB z ogonem integryny  $\beta 1$ , stymulowania ekspresji kinazy związanej z integryną lub oddziaływaniem z supresorem nowotworów DLC1.

Rozprawa doktorska została przedstawiona w formie 3 powiązanych tematycznie prac naukowych opublikowanych w czasopiśmie anglojęzycznym o łącznym IF: 8,197, MEiN: 300 pkt, w tym jednej pracy poglądowej stanowiącej przegląd literatury na temat badanych białek TNS1, TNS2, TNS3, TNS4. We wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem. Praca doktorska została wydana wraz z komentarzem w formie książkowej, zawiera 80 stron, jest wydana estetycznie i składa się z typowych części: wykaz publikacji, wprowadzenie z przeglądem literatury, cele pracy z uzasadnieniem podjętej tematyki, omówienie celów, materiału i metodyki, wyników, podsumowanie i dyskusja oraz wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim. Dołączone zostały oświadczenia autora rozprawy doktorskiej, współautorów publikacji, zgoda Komisji Bioetycznej oraz dorobek naukowy Doktoranta.

Celami zbioru powiązanych tematycznie publikacji naukowych stanowiących rozprawę doktorską mgr Marcina Nizioła były:

1. Ocena ekspresji białek adhezyjnych: TNS1, TNS2, TNS3 oraz TNS4 w raku żołądka w porównaniu do prawidłowej błony śluzowej.
2. Wykonanie korelacji pomiędzy ekspresją tych białek a wybranymi parametrami kliniczno-histopatologicznymi raka żołądka.
3. Wykonanie korelacji pomiędzy ekspresją tensyn a całkowitym przeżyciem pacjentów.




2

Pierwsza w cyklu praca pogładowa pt. *The role of tensins in malignant neoplasms* opublikowana w *Archives of Medical Science*, 2021, <https://doi.org/10.5114/aoms/127085>, stanowi szeroką analizę aktualnego stanu wiedzy (przegląd piśmiennictwa do 2019 roku) na temat podjętego problemu badawczego w różnych typach nowotworów, uzasadniając celowość przeprowadzonych badań. Autorzy w sposób interesujący przedstawili najnowsze dostępne dane literaturowe dotyczące roli 4 białek adhezyjnych: TNS1, TNS2, TNS3 oraz TNS4 w procesach fizjologicznych i rozwoju nowotworów na poziomie zmian molekularnych jak i translacyjnych na liniach komórkowych, modelach zwierzęcych oraz tkankach ludzkich. Najszerzej badanym białkiem było TNS4. Pomimo, że tensyny odgrywają ważną rolę w procesach powstawania, różnicowania i przerzutowania nowotworów, ich rola jest nadal nie w pełni jednoznaczna. Mogą odgrywać rolę w procesach migracji i inwazyjności komórek nowotworowych, jak i hamowania tych procesów, co uzasadnia konieczność pogłębiania badań nad rolą tensyn i innych białek adhezyjnych w rozwoju nowotworów oraz jako potencjalnych markerów prognostycznych i celów terapeutycznych. Zgodnie z oświadczeniem, Doktorant odpowiedzialny był za projekt badań i zdobycie funduszy oraz przygotowanie manuskryptu.

Wyniki prac badawczych przedstawiono w dwóch publikacjach pt. *Immunohistochemical Analysis of the Expression of Adhesion Proteins: TNS1, TNS2 and TNS3 in Correlation with Clinicopathological Parameters in Gastric Cancer*. opublikowana w *Biomolecules*. 2021; 11(5):640. DOI: 10.3390/biom11050640; oraz pracy pt. *Increased tensin 4 expression is related to the histological type of gastric cancer* opublikowanej w *World Journal of Clinical Oncology*. 2021; 12(12):1202-1214. DOI: 10.5306/wjco.v12.i12.1202.

Analizę histo-kliniczną w oparciu o ekspresję immunohistochemiczną białek TNS1, TNS2, TNS3 oceniono w pierwszej pracy u 90 oraz w drugiej pracy TNS4 u 89 pacjentów z rakiem żołądka, w porównaniu z 20 przypadkami prawidłowej tkanki żołądka. Materiał pooperacyjny pochodził z II Kliniki Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku od pacjentów operowanych w latach 2005-2015. Analizowane dane w badanej grupie stanowił typ histopatologiczny, lokalizacja zmiany, stopień zróżnicowania histologicznego, stopień zaawansowania klinicznego (cecha T, N, M), cechy angio i neuroinwazji, desmoplazja, status infekcji bakterią *Helicobacter pylori* w barwieniu Giemsa oraz całkowite przeżycie w zależności od ekspresji badanych białek. Punkt odcięcia procentowego pozytywnej ekspresji badanych białek został ustalony statystycznie: dla TNS1 w >5% komórek nowotworowych, TNS2 w >10% komórek nowotworowych, dla TNS3 i TNS4 w ≥20% komórek nowotworowych.

W publikacjach zostało wykazane, że dodatnia ekspresja białek TNS1, TNS2, TNS3 oraz TNS4 jest związana ze stopniem złośliwości histologicznej. Ekspresja białka TNS1



3

występuje ponad trzykrotnie częściej w nowotworach żołądka niezróżnicowanych niż w typie niskozróżnicowanym, podczas gdy nie wykryto jej obecności w nowotworach średniozróżnicowanych. Ponadto jest ona związana z obecnością przerzutów do narządów odległych, co wspiera hipotezę o roli TNS1 jako niekorzystnego czynnika prognostycznego w raku żołądka

Z kolei dodatnia ekspresja TNS2, TNS3 oraz TNS4 była obserwowana częściej w nowotworach żołądka średniozróżnicowanych niż w nisko- lub niezróżnicowanych. Wyższej ekspresji TNS2 towarzyszy naciek okołoguzowy z komórek zapalnych i infekcja *H. pylori*, które sprzyjają rozwojowi raka o lepszym rokowaniu, podobnie jak w przypadku wyższej ekspresji białka TNS3.

W 2. pracy wykazano również, że ekspresja białka TNS4 występuje dwukrotnie częściej w nowotworach żołądka o średnicy  $\geq 5$  cm w porównaniu do nowotworów o średnicy mniejszej niż 5 cm. Dodatnia ekspresja białka TNS4 występowała częściej w rakach żołądka bez komponenty śluzowej niż w gruczolakorakach śluzowych, wiążących się z gorszym rokowaniem, niższą wrażliwością na leczenie i zwiększonym ryzykiem nabycia oporności na chemioterapię. Ponadto wykazano istotne zależności pomiędzy ekspresją TNS4 a stopniem złośliwości histologicznej, typem histologicznym i typem jelitowym nowotworu wg klasyfikacji Laurena. Wyniki wskazują, że TNS4 może pełnić rolę białka kształtującego pewien typ nowotworu oraz ma znaczenie prognostyczne.

Wkład pracy Doktoranta w pracach badawczych polegał na zaprojektowaniu badań, pozyskaniem funduszy, przeprowadzeniu eksperymentów, analizie statystycznej i interpretacji wyników, przygotowaniu manuskryptu łącznie z przygotowaniem dokumentacji zdjęciowej i przeglądem literatury.

Wyniki badań świadczą o złożonej roli badanych tensyn w patogenezie raka żołądka oraz ich znaczeniu prognostycznym, pozwoliły na sformułowanie wniosków:

1. Białko TNS1 może pełnić rolę w rozwoju przerzutów raka żołądka, a także wpływać na rozwój szczególnych typów histologicznych.
2. Zapalenie spowodowane infekcją *H. pylori* może mieć wpływ na wzrost ekspresji białka TNS2 w komórkach raka żołądka.
3. Ekspresja białka TNS3 może mieć związek z dojrzałością histologiczną raka żołądka.
4. Zwiększony poziom ekspresji TNS4 jest związany z typem histologicznym raka żołądka o lepszym rokowaniu, a także może wiązać się ze wzrostem masy guza.

Uzyskane wyniki zostały wyczerpująco przedstawione i udokumentowane. W omówieniu wyników Doktorantowi przytrafił się *lapsus* językowy w zdaniu "Histologicznie, fenotypowo rak żołądka typu jelitowego cechuje się komórkami tworzącymi cewy gruczolów, w świetle których

rozwija się nowotwór”. Oczywiście to cewy gruczołowe złożone z atypowych komórek tworzą proliferację nowotworową, a nie nowotwór rozwija się w ich świetle.

**Podsumowując, bardzo pozytywnie oceniam** wartość naukową przedstawionej pracy doktorskiej, podjęty temat jest niezwykle istotny, eksperymenty zostały zaprojektowane i przeprowadzone prawidłowo, uzyskane wyniki odzwierciedlają założenia i cele pracy. Niniejsza praca doktorska wskazuje na znakomite przygotowanie teoretyczne Autora oraz opanowanie przez niego warsztatu badawczego i umiejętności krytycznej analizy uzyskanych wyników. Przedstawiona do oceny praca doktorska pt.: "**Ocena immunohistochemiczna ekspresji białek adhezyjnych z rodziny tensyn w raku żołądka**" **spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim**, zgodnie z podstawą prawną art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz art.179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r., postępowanie o nadanie stopnia doktora prowadzone jest na podstawie ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.), dlatego wnoszę do **Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pana mgr Marcina Nizioła** do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na wysoką wartość naukową rozprawy, publikacje w uznanych wysoko punktowanych czasopismach naukowych, wysoki stopień indywidualnego zaangażowania Doktoranta w powstanie prac zbiorowych, wnoszę do **Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek, o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej Pana mgr Marcina Nizioła.**

Dr hab. n. med. Prof. UMED w Łodzi

Doroła Jesionek-Kupnicka

