

Prof. dr hab. med. Maria Chosia

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Barbary Bikowskiej-Opalach pt.: „Analiza ekspresji β -kateniny i LLT1 w szpiczaku plazmocytowym”

Szpiczak plazmocytowy jest chorobą o szerokim spektrum obrazu klinicznego i trudno przewidywalnym przebiegu klinicznym: od przebiegu bezobjawowego, do agresywnego. Badania ostatnich lat przyczyniły się do znaczącego postępu w zrozumieniu mechanizmów tej choroby, co znalazło odbicie zarówno w diagnostyce jak i terapii. Wprowadzono nowe klasyfikacje prognostyczne, oparte także na ocenie zmian cytogenetycznych. Jednak w dalszym ciągu w części przypadków istnieją problemy związane z diagnostyką szpiczaka i rokowaniem. Dlatego lek. Barbara Bikowska-Opalach, po przeanalizowaniu literatury, postanowiła zbadać przydatność immunohistochemicznej oceny ekspresji dwóch białek, możliwych do oznaczenia w rutynowej diagnostyce: β -kateniny i lektyno-podobnego transkryptu 1 (LLT1) jako potencjalnych czynników diagnostycznych i prognostycznych.

Temat pracy uważam za oryginalny i aktualny. Wybór tych dwóch białek przez Doktorantkę nie był przypadkowy. β -katenina, kodowana przez gen *CTNNB1*, jest białkiem szeroko występującym w różnego typu komórkach, zaangażowanym w regulację i koordynację połączeń międzykomórkowych i transkrypcję genów. Mutacje i nadekspresja β -kateniny związane są z różnymi nowotworami, w tym także ze szpiczakiem plazmocytowym. Brak jest jednak publikacji na temat jej potencjału diagnostycznego i rokowniczego. Białko LLT1 związane jest z regulacją odpowiedzi immunologicznej poprzez interakcję z komórkami NK i limfocytami T, a także z funkcją hamowania osteoklastogenezy. Jak wiadomo, w szpiczaku ma miejsce zarówno wzrost aktywności osteoblastów, jak i osteoklastów. Nie ma jednak danych na temat badań ekspresji LLT1 w komórkach szpiczaka.

Celem pracy było: 1) określenie ekspresji β -kateniny i LLT1 metodą immunohistochemiczną w trepanobiopsjach szpiku kostnego pochodzących od

chorych ze szpiczakiem plazmocytowym i w grupach kontrolnych i 2) analiza ekspresji ekspresji β -kateniny i LLT1 w zależności od wybranych czynników: parametrów klinicznych, wyników badań dodatkowych, oceny histologicznej, immunocytochemicznej, cytologicznej i cytometrycznej szpik u kostnego oraz zmian genetycznych.

Badania miały charakter retrospektywny, w których poddano analizie 93 trepanobiopsje szpiku kostnego pochodzące od 80 chorych z rozpoznaniem szpiczakiem plazmocytowym oraz 3 grupy kontrolne: 28 prawidłowych trepanobiopsji, 5 biopsji pozaszpikowych z utkaniem szpiczaka plazmocytoowego i 6 biopsji tkanek bogatych w nienowotworowe plazmocyty.

Biopsje poddano dokładnej ocenie morfologicznej, z uwzględnieniem typów morfologicznych nowotworowych plazmocytów wg klasyfikacji Greippa. Immunofenotyp nowotworowych plazmocytów oceniono immunohistochemicznie na podstawie ekspresji CD138, łańcuchów lekkich immunoglobulin kappa i lambda oraz CD56 i cykliny D1. Wynik reakcji immunohistochemicznej na obecność β -kateniny i LLT1 oceniano zarówno jakościowo, jak i metodą półilościową przy użyciu zmodyfikowanej skali IRS wg Remmele'a. W grupie badanej przeprowadzono analizę danych klinicznych z uwzględnieniem parametrów dotyczących przebiegu choroby: objawów klinicznych, stopnia zaawansowania choroby, zastosowanego leczenia, wyników badań laboratoryjnych i radiologicznych. Następnie zbadano związek wybranych parametrów kliniczno-morfologicznych z ekspresją β -kateniny i LLT1. Wyniki badań poddano analizie statystycznej z zastosowaniem odpowiednich testów, które umożliwiły obiektywną ocenę uzyskanych wyników.

Ekspresję β -kateniny, głównie w postaci cytoplazmatycznych agregatów położonych w okolicy jądra komórkowego, w nowotworowych plazmocytach stwierdzono we wszystkich trepanobiopsjach, z tym że przypadki różniły się między sobą odsetkiem dodatnich komórek i intensywnością odczynu. W I grupie kontrolnej część prawidłowych plazmocytów wykazywała obecność okołojądrowych agregatów o różnej intensywności odczynu. W II grupie kontrolnej zaś ekspresję β -kateniny stwierdzono we wszystkich przypadkach, ale wartości w skali IRS były niższe, niż w grupie badanej. W III grupie kontrolnej we wszystkich przypadkach stwierdzono ekspresję β -kateniny, ale plazmocyty odczynowe różniły się między sobą intensywnością odczynu znacznie bardziej niż plazmocyty nowotworowe grupy badanej.

Ekspresję LLT1 stwierdzono w 84% przypadków w trepanbiopsjach grupy badanej, głównie w rozlanej formie cytoplazmatycznej, i także w części przypadków w postaci agregatów. Poszczególne przypadki różniły się między sobą odsetkiem dodatnich komórek i intensywnością odczynu. Ekspresja LLT1 była porównywalna w komórkach nowotworowych w biopsjach szpiku kostnego i naciekach pozaszpikowych. Plazmocyty odczynowe zaś, częściej niż nowotworowe, zawierały agregaty cytoplazmatyczne.

Stwierdzono ponadto, że ekspresja β -kateniny była obecna także w megakariocytach i niedojrzałych komórkach linii mieloidalnej, a ekspresja LLT1 – w komórkach linii granulocytarnej.

Na podstawie powyższych badań nie stwierdzono jednak przydatności oceny ekspresji β -kateniny i LLT1 w różnicowaniu komórek plazmatycznych nowotworowych z komórkami plazmatycznymi prawidłowymi.

Interesująca jest analiza ekspresji badanych białek w zależności od wybranych czynników klinicznych. Stwierdzono, że pacjenci z niską ekspresją β -kateniny rzadziej uzyskiwali dobrą odpowiedź na leczenie, z wyjątkiem przypadków, w których zastosowano schematy zawierające inhibitory proteasomu. U chorych z niską ekspresją β -kateniny zaobserwowano także trend do krótszego przeżycia wolnego od progresji i przeżycia całkowitego. Niższa ekspresja β -kateniny wiązała się również z plazmoblastyczną morfologią komórek nowotworowych i brakiem ekspresji CD56.

Stwierdzono, że wyższa ekspresja LLT1 korelowała z wyższym stężeniem kreatyniny w surowicy oraz niższą liczbą erytrocytów w morfologii krwi. W przypadkach ze średnią i wysoką ekspresją LLT1 zaobserwowano trend do krótszego przeżycia całkowitego. Wyższą ekspresję LLT1 stwierdzono u chorych z plazmoblastyczną i niedojrzałą morfologią komórek nowotworowych oraz u chorych z zaawansowaną chorobą, u których przed biopsją zastosowano co najmniej 2 linie leczenia.

Rozprawa napisana jest wg schematu klasycznego na 116 stronach, zawiera 103 pozycje dobrze dobranej literatury i bardzo bogaty materiał ilustracyjny: 41 rycin, 29 tabel, i 11 fotografii, których spis znajduje się na początku pracy. Praca napisana jest ładnym stylem, poszczególne rozdziały i podrozdziały ułożone systematycznie i przejrzysto.

Rozdział I - Wstęp, mający wszelkie zalety pracy poglądowej, jest dobrym wprowadzeniem umożliwiającym poznanie założeń badawczych

Autorki. Opracowany szczegółowo i wyczerpująco, został podzielony na podrozdziały, w których przedstawiono m.in. etiologię i patogenezę szpiczaka plazmocytozy, obraz kliniczny wraz z kryteriami rozpoznania, a także problemy związane z leczeniem i klasyfikacjami prognostycznymi tej choroby. Istotną częścią Wstępu Autorka poświęciła opisowi roli β -kateniny i lektynopodobnego transkryptu 1 w warunkach fizjologicznych i patologicznych, w ze szczególnym uwzględnieniem nowotworów, w tym szpiczaka. Omówienie literatury jest bardzo szerokie, konsekwentnie wprowadza w tematykę pracy i umożliwia poszerzenie wiedzy koniecznej do prześledzenia dalszych jej etapów.

W rozdziale „Materiał i metody” materiał badawczy wraz z trzema grupami kontrolnymi został odpowiednio opisany i przedstawiony w tabelach. Wszystkie zastosowane metody badawcze opisano szczegółowo i uzupełniono tabelami. Badania zostały odpowiednio zaplanowane i zrealizowane

Wyniki badań, podzielone na podrozdziały, zostały przedstawione w formie opisowej, tabelarycznej oraz w postaci licznych rycin oraz mikrofotografii. Są one ujęte syntetycznie i bardzo dobrze udokumentowane. Na uwagę zasługuje precyzyjny sposób oceny ekspresji β -kateniny i LLT1 metodą półilościową przy użyciu zmodyfikowanej skali IRS wg Remmele’a.

Dyskusja została napisana wnikliwie i rzeczowo. Autorka podała szeroki przegląd piśmiennictwa, w którym wykazała się dobrą znajomością tematu. W sposób rzeczowy i krytyczny konfrontuje uzyskane przez siebie wyniki badań z wynikami badań w piśmiennictwie.

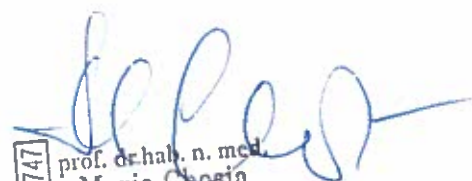
Lek. Barbara Bikowska-Opalach sformowała 4 wnioski, które stanowią podsumowanie uzyskanych wyników pracy, przy czym 2 z nich są najważniejsze:

1. Nie stwierdzono przydatności oceny ekspresji β -kateniny i LLT1 w różnicowaniu komórek szpiczaka plazmocytozy z prawidłowymi komórkami plazmatycznymi;
2. Ocena ekspresji β -kateniny i LLT1 wykazuje potencjał prognostyczny. Niska ekspresja β -kateniny i wysoka ekspresja LLT1 wydają się być niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi.

Podsumowując pragnę stwierdzić, iż praca została wykonana w profesjonalny sposób. Autorka wykazała się dobrą znajomością warsztatu badawczego jak również znakomitą znajomością literatury, czemu dała dowód zarówno we wstępie, jak i w dyskusji.

Rozprawa doktorska pt.: „Analiza ekspresji β -kateniny i LLT1 w szpiczaku plazmocytowym” spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r, poz. 1669 z późn. zm.) Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wnioski o dopuszczenie **lek. Barbary Bikowskiej-Opalach** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Szczecin, 19 listopada 2020 r.


3562747 prof. dr hab. n. med.
Maria Chesia
specjalista patomorfolog