

dr hab. n. med. Andrzej Mróz

Warszawa 21.07.2018

Zakład Patomorfologii

Klinika Gastroenterologii, Hepatologii I Onkologii Klinicznej

Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego – Warszawa

Ocena rozprawy doktorskiej lek. med. Grzegorza Szpareckiego pt” Znaczenie wybranych szlaków hepatokarcynogenezy w molekularnym fenotypie i genotypie gruczolaka wątrobowokomórkowego”

Rak wątrobowo komórkowy (HCC) stanowi istotny problem diagnostyczny i kliniczny na całym świecie będąc piątym co do częstości występowania nowotworem złośliwym. Trudny w rozpoznaniu, ma także zróżnicowaną etiopatogenezę i wielokierunkowe szlaki rozwoju na poziomie molekularnym, epigenetycznym i ekspresji białek. Od wielu już lat wiadomo, że czynnikiem ryzyka rozwoju HCC jest marskość wątroby rozwijająca się przede wszystkim na podłożu zakażenia wirusami hepatotropowymi oraz na podłożu czynników toksycznych czy w zespołach genetycznych. W odróżnieniu do innych nowotworów, w których rozwój zmian złośliwych poprzedza występowanie łagodnych odpowiedników, a szlak przemian dotyczy także akumulacji zmian genetycznych (przykładem modelowym jest rozwój raka jelita grubego na podłożu gruczolaka) w przypadku HCC rola gruczolaka wątrobowo komórkowego jako prekursora zmian złośliwych jest słabo poznana i dotyczy zapewne jedynie części przypadków. Ma to duże znaczenie kliniczne, gdyż gruczolaki wątroby występują u młodych, skądinąd zdrowych osób, a ich obecność, jak do tej pory uważamy, może nieść ryzyko powikłań raczej mechanicznych, nie onkologicznych. Od kilku już lat jednak wiemy, że gruczolaki wątroby różnią się między sobą, nie tyle, albo nie przede wszystkim pod względem budowy histologicznej, lecz w zakresie zmian genetycznych prowadzących do ich rozwoju. Wyróżnia się gruczolaki zapalne z mutacją genu IL6ST, gruczolaki z mutacją w zakresie genu HNF1A oraz gruczolaki związane z nieprawidłowym

funkcjonowaniem szlaku Wnt/ β -kateniny, które stanowią 10-15% przypadków. To właśnie ostatni podtyp obarczony jest, w świetle współczesnej wiedzy, największym ryzykiem rozwoju HCC.

Chęć poznania dokładnych mechanizmów molekularnych ewentualnej progresji HA w HCC stała się przyczynkiem podjęcia badań przez lek. Grzegorza Szpareckiego, który postanowił zbadać zmiany dotyczące ekspresji białek protoonkogenu MET i genu supresorowego PTEN w tkance nienowotworowej wątroby, HCC i gruczolakach, ze szczególnym uwzględnieniem podtypu z zaburzeniem szlaku Wnt/ β -kateniny. Wyniki tych badań podsumowuje przedstawiona do recenzji praca pt „Znaczenie wybranych szlaków hepatokarcynogenezy w molekularnym fenotypie i genotypie gruczolaka wątrobowokomórkowego” Stanowi ona podsumowanie dwóch artykułów „ Expression of c-MET protein in various subtypes of hepatocellular adenoma compared to hepatocellular carcinoma and nondysplastic liver in human tissue” oraz „ Comparison of subtypes of hepatocellular adenoma to hepatocellular carcinoma and non-dysplastic liver tissue in terms of PTEN expression” opublikowanych w 2017 w Folia Biologica, w których Doktorant jest pierwszym autorem. Celem prac było ocena immunohistochemiczna ekspresji białek c-MET i PTEN w skrawkach parafinowych pochodzących od 59 pacjentów w tym 20 z gruczolakami wątroby, 19 z HCC G3, 9 z HCC G2 i G1 i 11 z prawidłową tkanką wątroby. Warto podkreślić, że w obu pracach Doktorant wykorzystał tę samą grupę pacjentów, metodykę badawczą oraz sposób oceny ekspresji c-MET i PTEN z wykorzystaniem skanowania preparatów i automatycznego określenia intensywności ekspresji w korelacji z liczbą pozytywnych komórek. Pod względem formalnym przedstawione mi do oceny w formie wydruku podsumowanie obejmuje słowa kluczowe, spis treści, wykaz publikacji stanowiących rozprawę, wykaz stosowanych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp z wykazem piśmiennictwa, założenia i cele pracy, odbitki publikacji oraz podsumowanie i wnioski.

Na podstawie przeprowadzonych badań autor wykazał, iż:

1. ekspresja c-MET i PTEN w gruczolakach wątroby jest zróżnicowana, gruczolaki zapalne i z mutacją HNF1A wykazywały większą ekspresję c-MET oraz większy ubytek ekspresji PTEN w porównaniu do gruczolaków ze zmianami w szlaku Wnt/ β - katenina

2. nadekspresja c-MET i ubytek barwienia PTEN były większe w niskozróżnicowanych rakach wątrobowo komórkowych niż w rakach G1 i G2
3. ekspresja badanych białek w nienowotworowej wątrobie była podobna jak w HCC G1 i G2 i gruczolakach z mutacją w szlaku WNT/ β -katenina

Otrzymane wyniki Doktorant omawia w obu publikacjach w ciekawej dyskusji oraz w krótkim, syntetycznym podsumowaniu. Zauważa, iż są one przeciwne do oczekiwanych w zakresie nadekspresji c-MET i delekcji PTEN w grupie gruczolaków wątroby ze zmianami w szlaku Wnt/ β -katenina i HCC G3. Według dotychczasowej wiedzy ta grupa gruczolaków jest obciążona największym ryzykiem progresji do raka i właśnie w tej grupie gruczolaków oczekiwano wyników zbliżonych do nowotworu złośliwego. Jednak, jak słusznie zauważa autor, progresja nowotworu może być zjawiskiem nieliniowym i obejmującym inne, niepoznane dotąd szlaki. Co więcej, podobnie jak w innych narządach nowotwór łagodny powinien ulegać progresji najpierw do wysoкодodrzałych histologicznie typów raka, co potwierdzała by podobna ekspresja białek w rakach G1 i G2. Z drugiej strony zwiększona ekspresja c-MET i ubytek PTEN w gruczolakach zapalnych i z mutacją HNF1A jest nieoczekiwana, bo te zmiany, jak do tej pory, nie były związane z ryzykiem rozwoju HCC. Może to oznaczać według kandydata, że zmiany w genach c-MET i PTEN mają zupełnie inne, niepowiązane znaczenie kliniczne w przypadku gruczolaków i raków wątroby G3. Taka konkluzja uspokaja, wymaga jednak dalszych badań, bo może potencjalnie zupełnie zmienić nasze podejście do znaczenia i leczenia gruczolaków wątroby.

Uważam, zatem że wyniki otrzymane przez kandydata wnoszą nowe informacje w dziedzinie patofizjologii gruczolaków wątroby, a także otwierają nowe pola w dyskusji na ten temat. Lek. Grzegorz Szparecki zaplanował badania prawidłowo, wybierając dwa geny o udokumentowanym w przypadku HCC i nieznanym w przypadku gruczolaków znaczeniu. Wykorzystał tę samą grupę pacjentów i tkanek oraz zunifikowane metody badania i oceny, co według mnie zwiększa wiarygodność otrzymanych wyników.

Jako recenzent i histopatolog mam kilka drobnych uwag i wątpliwości. Zabrakło mi nieco dokładniejszego opisu obrazu histologicznego na podstawie, którego dokonywano podziału raków wątroby na stopnie zróżnicowania. Zamieszczona tabelka, bez zarzutu ze względów formalnych, nie uwypukla w moim przekonaniu dostatecznie trudności w jej praktycznym

zastosowaniu, z czym borykamy się w codziennej praktyce diagnostycznej. Może to mieć istotne znaczenie, zwłaszcza w grupach chorych o niewielkiej liczebności. Zabrakło mi także dokładniejszej analizy wyników w kontekście konkretnych podtypów gruczolaków i ich liczebności. Rozumiem, że w obu badaniach gruczolaków ze zmianami szlaku Wnt/ β -katenina było 10, a więc połowa. Jak zatem przedstawiały się liczebności i konkretne wartości ekspresji w pozostałych? Zachęcałbym także kandydata, zgodnie z jego własną sugestią wyrażoną w dyskusji, do dalszych badań z molekularną oceną mutacji c-MET i PTEN dających podstawę do obserwowanych zmian w ekspresji białek.

Powyższe uwagi nie wpływają na pozytywną ocenę pracy Doktoranta. Przedstawione badania odnoszą się to ciekawego, bardzo istotnego klinicznie problemu. Są właściwie zaprojektowane i przeprowadzone z dbałością o powtarzalny, merytorycznie poprawny warsztat. Wyniki i prawidłowo wyciągnięte wnioski rozwijają i poszerzają wiedzę w dziedzinie rozwoju i potencjału złośliwienia gruczolaków wątroby. Na podstawie powyższego stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2016 poz. 882 z późniejszymi zmianami). Mam, zatem zaszczyt wnioskować do Wysokiej Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Grzegorza Szpareckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med.
ANDRZEJ MRÓZ
specjalista patomorfolog
713818

