



SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE
INSTYTUT BIOLOGII
SAMODZIELNA PRACOWNIA BIOLOGII NOWOTWORU

Warszawa, 14.11.2019 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani Moniki Prełowskiej
pt. „Ocena roli kinazy MLK4 w procesach nowotworzeni i progresji
potrójnie negatywnego raka piersi”

Praca doktorska pani Moniki Prełowskiej dotyczy bardzo ważnego zagadnienia, jakim jest potrójnie negatywny rak piersi (TNBC, ang. *triple negative breast cancer*). Rak piersi należy do najczęstszych nowotworów złośliwych występujących wśród kobiet w Polsce. W roku 2016 według Krajowego Rejestru Nowotworów liczba zachorowań na ten nowotwór wyniosła ok. 18,6 tys. (standaryzowany współczynnik zachorowalności stanowił ok. 73/100 000). W Polsce, wśród kobiet rak piersi stanowi drugą, po raku płuca, przyczynę zgonów spowodowanych przez nowotwory złośliwe. W roku 2016 liczba zgonów z powodu tej choroby wyniosła ok. 6 500 (standaryzowany współczynnik umieralności stanowił ok. 21,6/100 000). U ok. 15% chorych na raka piersi rozpoznaje się tzw. potrójnie ujemnego raka piersi co dla populacji polskiej może stanowić ok. 2 500 zachorowań rocznie. TNBC pod względem histologicznym jest nowotworem nisko zróżnicowanym i charakteryzuje się brakiem ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych oraz brakiem ekspresji receptora naskórkowego czynnika wzrostu typu 2. Jest nowotworem o wysokim stopniu agresywności, mediana czasu przeżycia wynosi zaledwie ok. 13 miesięcy. Głównie choroba ta dotyczy młodych kobiet. Cechuje się skłonnością do powstawania w krótkim czasie odległych przerzutów, zwłaszcza do narządów miękkich. Charakterystyka molekularna potrójnie negatywnego raka piersi wskazuje głównie na profil bazalopodobny ekspresji genów (ok. 81%).

Pacjentki z potrójnie ujemnym rakiem piersi z uwagi na stwierdzany brak ekspresji receptorów ER, PR oraz HER2 mają wskazań do leczenia ukierunkowanego przeciwko receptorowi HER2 oraz hormonoterapii, które w innych grupach chorych z tym nowotworem są powszechnie wykorzystywane i korzystnie wpływają na poprawę wyników leczenia.

Profilowanie molekularne pokazuje, że TNBC jest bardzo heterogenną podgrupą raka piersi, a wybór terapii celowanej powinien zależeć od zaburzeń określonych szlaków przewodzenia w komórce. Dlatego też badania nad poszukiwaniem czynników TNBC mogących stanowić cel potencjalnych terapii są bardzo ważne i potrzebne.

Pani Monika Prełowska podjęła się właśnie takiego zadania i w swojej pracy badała rolę kinazy MLK4 w procesach rozwoju i progresji potrójnie negatywnego raka piersi. Kinaza MLK4 jest najmniej zbadaną kinazą z rodziny, a jej udział w rozwoju nowotworów nie jest jednoznaczna. W związku z powyższym podjęcie próby wyjaśnienia jej roli w progresji potrójnie negatywnego raka piersi było jak najbardziej uzasadnione.

Wyniki pracy pani Moniki Prełowskiej zostały opublikowane w bieżącym roku w uznanym czasopiśmie „Oncogene”: Marusiak AA, Prełowska MK, Mehlich D. i wsp. *Oncogene*, 2019, 38(15): 2860-2875, a także w ubiegłym roku (2018) zostały zaprezentowane podczas konferencji San Antonio Breast Cancer Symposium w USA.

Ponieważ opublikowana praca jest wieloautorska i praktycznie pokrywa się z treścią niniejszej dysertacji, a Doktorantka jest jej drugim autorem, to zabrakło mi opisu udziału autorów w realizacji badań. Informacji takiej nie znalazłam także na stronie internetowej „Oncogene”.

Układ przedstawionej do recenzji pracy i kolejność rozdziałów są typowe dla prac doktorskich, kolejność poruszanych zagadnień logiczna i przejrzysta. Układ graficzny pracy jest elegancki. Moje zastrzeżenia budzi jedynie przedstawianie rycin i ich opisów – czasami rycina zaczyna i kończy się na jednej stronie, a jej opis znajduje się dopiero na drugiej stronie. Zamieszczone ryciny i tabele są przejrzyste i czytelne. Całość pracy jest napisana poprawnym językiem. Zabrakło mi jednak informacji na temat wykształcenia lub przebiegu dotychczasowej edukacji pani Prełowskiej. Nic nie wiadomo czy jest magistrem, lekarzem, w jakim kierunku zdobyła wykształcenie.

We wstępie pracy Autorka opisuje problem, jakim jest rak piersi u kobiet, wraz z podaniem klasyfikacji molekularnej. Następnie przedstawia przegląd aktualnego piśmiennictwa dotyczący potrójnie negatywnego raka piersi i metod leczenia. Logicznie przechodzi do omówienia kinazy MLK4 oraz jej roli w rozwoju nowotworów.

Kolejnym rozdziałem jest opis celu pracy – przedstawiony bardzo przejrzysto w postaci punktów i dodatkowo rysunku. Autorka postawiła sobie cel główny: Zbadanie roli zwiększonej ekspresji kinazy MLK4 w procesach nowotworzenia i progresji potrójnie negatywnego raka piersi oraz ewaluacja MLK4 jako celu terapeutycznego w tej chorobie.

W osiągnięciu tego celu miały pomóc cztery logicznie postawione i sukcesywnie realizowane kamienie milowe.

W następnej kolejności p. Prełowska opisuje materiały i metody. Robi to w sposób dokładny, objaśniając na schematach logistycznie bardziej skomplikowane eksperymenty. Swoboda w opisie stosowanych technik badawczych świadczy o bardzo dobrym ich opanowaniu przez Doktorantkę. Jednak w opisie mysiego modelu ksenoprzeszczepienia ludzkich komórek nowotworowych zabrakło mi kilku informacji, np. dlaczego w grupie kontrolnej (komórki bez wyciszonej ekspresji) wzrost guza był mierzony raz w tygodniu, a w pozostałych grupach dwa razy w tygodniu. Do tego, skoro były różnice w procedurze czy czasie wykonywania pomiarów pomiędzy grupą po wyciszeniu i bez wyciszenia to trudno tu mówić o pełnym zaślepieniu eksperymentu. Autorka podaje też informację, że myszy uśmiercano kiedy objętość guza uzyskała maksymalną dopuszczalną objętość, ale nie podaje jaka to była objętość.

Z kolei w opisie badań próbek pozyskanych od pacjentek/z bazy danych zabrakło mi informacji klinicznych tj. historii leczenia – czy pacjentki były poddane terapii, jeśli tak to jakiej i jakie były efekty tego leczenia. W mojej ocenie korelacja uzyskanych wyników z takimi danymi z historii choroby znacznie wzbogaciłaby pracę i może pozwoliłaby na wysnucie dodatkowych wniosków.

Kolejno, Doktorantka opisuje uzyskane wyniki. Robi to bardzo starannie, logicznie i przedstawia je w elegancji sposób. Z drobnych uwag dotyczących wyników to zabrakło mi próby skorelowania historii leczenia pacjentek z wynikami analizy ekspresji mRNA oraz obecności mutacji w obrębie genu MLK4. W mojej ocenie taka analiza wzbogaciłaby pracę.

Z kolei w opisie wyników uzyskanych po wyciszeniu ekspresji MLK4 za pomocą siRNA zabrakło mi opisu na jakiej podstawie przyjęto czas 5 dni od wyciszenia do wykonania eksperymentów. Czy dokonano wcześniej analizy czasu wyciszenia? Czy do analizy Western blot przyjęto taki sam czas?

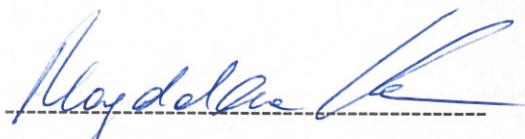
Następnie Autorka dokonuje dyskusji własnych wyników z informacjami z literatury. Uwzględnia przy tym najnowsze publikacje innych autorów, także te które ukazały się podczas realizacji tej pracy. Dyskusja jest krótka ale konkretna, dojrzała i profesjonalna. Uzupełnia ją podsumowanie pracy w postaci wniosków, które z pewnością stanowią odpowiedź na postawione na początku pytania i świadczą o osiągnięciu wyznaczonych kamieni milowych.

Autorka wykazała bowiem, że amplifikacja genu i zwiększona ekspresja mRNA kinazy MLK4 występuje u większości chorych na TNBC, co koreluje z krótszym czasem przeżycia

wolnego od wznowy. Wykazała także w modelach *in vitro*, że MLK4 promuje wzrost, proliferację i potencjał klonogeny komórek TNBC, kontroluje procesy migracji i inwazji komórek w modelach 2D, 3D i modelach mysich. Dodatkowo, wysoka ekspresja koreluje z wystąpieniem przerzutów. Z uwagi na fakt, że inhibitory MLK4 wykazują aktywność przeciwnowotworową wobec komórek TNBC to MLK4 może być obiecującym celem terapeutycznym co oczywiście wymaga dalszych badań.

Reasumując, praca charakteryzuje się dużą ilością ciekawych wyników, a sposób ich przedstawienia świadczy o swobodzie poruszania się w zagadnieniach naukowych i umiejętności rozwiązywania problemów doświadczalnych. Wnioski wynikające z rozprawy stanowią oryginalny wkład Autorki w rozwój dyscypliny naukowej.

W świetle powyższych stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani Moniki Prełowskiej spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim (zgodnie z Ustawą 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.) i stawiam wniosek o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnioskuje także o wyróżnienie pracy stosowną nagrodą, zgodnie z zasadami wewnętrznymi.



prof. dr hab. Magdalena Król