

Bydgoszcz, 08.04.2024

Prof. dr hab. n. med. Alina Grzanka  
Kierownik Katedry Histologii i Embriologii  
CM Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

### **Recenzja**

**Rozprawy doktorskiej lek. Przemysława Stefaniaka**

**Tytuł pracy: „Białko POLD1 jako czynnik prognostyczny w raku jelita grubego i w raku nerki.”**

**Promotor: dr hab. n. med. Janusz Godlewski, prof. UWM**

**Promotor pomocniczy: dr Bartłomiej Emil Kraziński**

Przedstawiona do recenzji praca w sposób interesujący porusza zagadnienie związku pomiędzy poziomem ekspresji białka POLD1, a danymi kliniczno-patologicznymi i przeżyciem pacjentów z jasnokomórkowym rakiem nerki (ccRCC) oraz rakiem jelita grubego (CRC). Podjęty temat badawczy jest istotny z uwagi na to, że leczenie wyżej wymienionych nowotworów wciąż stanowi wyzwanie, zwłaszcza gdy dochodzi do przerzutów. 5-letnie przeżycie pacjentów z CRC, u których doszło do metastazy wynosi poniżej 20%, a pacjentów z ccRCC z przerzutami poniżej 10%. Z uwagi na to, każde narzędzie, pozwalające lepiej przewidzieć możliwy przebieg choroby, lub trafniej dobrać odpowiednią ścieżkę terapii jest niezwykle wartościowe. Białko POLD1, które Doktorant wybrał na potencjalny marker prognostyczny, jest katalityczną podjednostką polimerazy DNA delta. Umożliwia on syntezę opóźnionej nici DNA, jak i również wykazuje aktywność egzonukleazową, wycinając źle sparowane nukleotydy. Z uwagi na niewielką ilość danych klinicznych opisujących ekspresję POLD1 w ccRCC jak i CRC, a także samą funkcję białka, niezwykle istotną w kontekście powstawania i progresji choroby nowotworowej, niniejsza praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Badania przedstawione przez Doktoranta mają wartość zarówno poznawczą, jak i kliniczną.

Na 29 stronach maszynopisu Doktorant zamieścił wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, wykaz skrótów, streszczenie, wstęp, cele pracy, opisał zakres badań oraz ich metodykę, a także w sposób zwięzły omówił wyniki każdej z prac. Rozprawę kończą podsumowanie, wnioski, spis literatury oraz źródło finansowania badań. Ponadto, do

rozprawy załączono kopie opublikowanych prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia kandydata i współautorów. Praca przygotowana jest starannie i zaprezentowana w sposób przejrzysty, zwięzły, a zarazem zrozumiały. Napisana jest poprawnym językiem, z użyciem właściwej terminologii, a sposób jej edycji jest prawidłowy. Zauważyłam tylko kilka drobnych błędów literowych i gramatycznych, które nie umniejszają istotnych osiągnięć pracy.

Wstęp stanowi klarowny i zwięzły zbiór informacji, które odpowiednio wprowadzają czytelnika w tematykę badawczą oraz są uzasadnieniem potrzeby podjęcia badań. Doktorant krótko opisuje epidemiologię ccRCC i CRC, a także przedstawia zwięzłe informacje na temat procesu kancerogenezy. W dalszej części Doktorant opisuje markery proliferacji, które znalazły zastosowanie w praktyce klinicznej (m. in. białka Ki-67, PCNA, MCM2-10). Ostatnią część wstępu Doktorant poświęcił klinicznemu znaczeniu mutacji w obrębie genu *POLD1* i ich wpływu na obraz kliniczny pacjentów. W dalszej części Doktorant przedstawił cele i wnioski.

W niniejszej rozprawie doktorskiej do badań wykorzystano materiał archiwalny w postaci blozków parafinowych zgromadzonych w Katedrze Histologii i Embriologii Człowieka Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie oraz dane pacjentów. Grupę badaną stanowiło 56 pacjentów z ccRCC i 78 pacjentów z CRC. Na przeprowadzenie badań uzyskano stosowną zgodę lokalnej Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (zgody nr 3/2010, 4/2010, 21/2017). Ponadto od pacjentów uzyskano świadomą, pisemną zgodę na uczestnictwo w badaniu. Zastosowano prawidłowe kontrole oraz kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów do badań. Dodatkowo do zbadania ekspresji mRNA *POLD1* u pacjentów CRC wykorzystano publicznie dostępne dane zgromadzone w ramach projektu TCGA.

W swojej pierwszej pracy badawczej Doktorant wykazał wyższą ekspresję *POLD1* w jądrach komórek ccRCC niż w niezmiennych jądrach komórek nabłonka kanalików krętych bliższych (PCTs). Ponadto wyższa immunoreaktywność *POLD1* korelowała pozytywnie z całkowitym przeżyciem pacjentów, które z kolei negatywnie korelowało z wyższym stopniem złośliwości komórek, średnicą guza, statusem T oraz obecnością przerzutów odległych.

W drugiej pracy oryginalnej, Doktorant skupił się na ocenie immunoekspresji *POLD1* u pacjentów z CRC. W przypadku tego nowotworu, wykazano niższą ekspresję *POLD1* w jądrach komórek zmienionych nowotworowo, w porównaniu z prawidłowym nabłonkiem.

Nie stwierdzono korelacji, pomiędzy poziomem ekspresji a danymi kliniczno-patologicznymi. Podobne wyniki uzyskano analizując dane mRNA 599 pacjentów, zgromadzone i udostępnione publicznie, w ramach projektu TCGA. Tym samym nie stwierdzono przydatności POLD1 jako markera prognostycznego w CRC.

Dwie kolejne prace cyklu stanowią prace przeglądowe, będące wyczerpującym opisem umieszczającym wykonane przez Doktoranta badania w szerszym kontekście. Pierwsza praca skupia się na roli POLD1 w powstawaniu i progresji choroby nowotworowej. Najogólniej ujmując, niemożliwe jest przypisanie POLD1 jednoznacznej roli onkogenu lub supresora nowotworzenia, a jego wpływ wydaje się być różny w zależności od specyfiki danego nowotworu.

Ostatnia praca dotyczy problematyki oceny rozrostu nowotworowego w obrębie pojedynczego polipa błony śluzowej. Polip jelita grubego diagnozowany jest w niemal 20% przypadków badania kolonoskopowego (zarówno przesiewowego jak i związanego z objawami). Praca szczegółowo odnosi się do problemu stwierdzenia nacieku raka gruczołowego w obrębie polipa. Opisuje zarówno naukowe podstawy, najnowsze rekomendacje Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego, jak i przedstawia stosowane klasyfikacje Haggitt i Kikuchi w celu ułatwienia wyboru odpowiedniego sposobu leczenia.

Oceniany cykl prac kończy się podsumowaniem oraz pięcioma wnioskami wynikającymi z badań, które zostały w sposób wyczerpujący przedstawione w rozdziale Wyniki prezentującym poszczególne publikacje wchodzące w skład ocenianej rozprawy doktorskiej. Na końcu umieszczono przejrzystą bibliografię, w której wykazano zróżnicowane źródła tekstowe.

Podsumowując, stwierdzam, że uzyskane w ramach dysertacji wyniki są spójne i istotne dla podjętej problematyki badawczej. Praca stanowi całościowe i oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i jest dowodem rozległej i ugruntowanej wiedzy Autora oraz potwierdzeniem predyspozycji i umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Doktorant udowodnił, że potrafi sformułować i rozwiązać postawiony problem naukowy oraz odpowiednio dobrać techniki badawcze, które posłużyły do uzyskania wyników na dobrym poziomie, a także przeprowadzić ich dyskusję z wynikami innych grup badawczych. Dlatego też, mogę jednoznacznie stwierdzić, że rozprawa doktorska lek. Przemysława Stefaniaka pt. „Białko POLD1 jako czynnik prognostyczny w raku jelita grubego i w raku nerki” w pełni spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. 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 powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie lek. Przemysława Stefaniaka do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Kierownik  
Katedry Histologii i Embriologii  
  
Prof. dr hab. Alina Grzanka