

Warszawa, 14 listopada 2018 r.

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Czaplńskiej  
pt. „Znaczenie biologiczne i kliniczne kinaz RSK w progresji raka piersi“.

Rak piersi jest, obok raka płuca, najczęstszym nowotworem złośliwym na świecie. Według ostatnich danych rocznie stwierdza się około 1,7 miliona zachorowań na raka piersi i ponad pół miliona zgonów z tego powodu. Od lat trwa poszukiwanie czynników rokowniczych i predykcyjnych, które pozwoliłyby na bardziej racjonalny dobór metod leczenia tego nowotworu. Wśród mechanizmów związanych z progresją nowotworów kluczowe znaczenie odgrywa oddziaływanie komórek guza z jego mikrośrodowiskiem. Dominującą populacją komórek w mikrośrodowisku są fibroblasty (CAF, ang. *cancer associated fibroblast*), które produkują szereg czynników wzrostu z rodziny FGF (ang. *fibroblast growth factors*). Oddziaływanie FGF z receptorami (FGFR) na powierzchni komórek nowotworów, m.in. raka gruczołu krokowego i raka jelita grubego, prowadzi do uruchomienia szeregu mechanizmów związanych z progresją choroby. U chorych na raka piersi rola szlaku FGF/FGFR oraz kinaz RSK (ang. *ribosomal s6 kinase*) nie jest do końca poznana. Dlatego też wybór tematu rozprawy mgr Dominiki Czaplńskiej - znaczenie biologiczne i kliniczne kinaz RSK w progresji raka piersi jest zatem w pełni uzasadniony, zarówno w sensie poznawczym, jak i aplikacyjnym.

Rozprawa doktorska mgr Dominiki Czaplńskiej obejmuje cykl 3 oryginalnych publikacji pełnotekstowych, pod zbiorczym tytułem: „Znaczenie biologiczne i kliniczne kinaz RSK w progresji raka piersi“ (ang. „Clinical and biological significance of RSK kinases in breast cancer progression“).

1: Czaplinska D, Gorska M, Mieczkowski K, Peszynska-Sularz G, Zaczek AJ, Romanska HM, Sadej R. RSK1 promotes murine breast cancer growth and metastasis. *Folia Histochem Cytobiol.* 2018;56(1):11-20.0239-8508 Impact factor: 1,586; Punktacja MNiSW: 15,00.

2: Czaplinska D, Mieczkowski K, Supernat A, Skladanowski AC, Kordek R, Biernat W, Zaczek AJ, Romanska HM, Sadej R. Interactions between FGFR2 and RSK2-implications for breast cancer prognosis. *Tumour Biol.* 2016;37(10):13721-13731. Impact factor: 3,650. Punktacja MNiSW: 25,00

3: Czaplinska D, Turczyk L, Grudowska A, Mieszkowska M, Lipinska AD, Skladanowski AC, Zaczek AJ, Romanska HM, Sadej R. Phosphorylation of RSK2 at Tyr529 by FGFR2-p38 enhances human mammary epithelial cells migration. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1843(11):2461-70. Impact factor: 5,019. MNiSW: 35,00.

Łączny współczynnik oddziaływania (*impact factor*) tych prac wynosi 10,255, a punktacja MNiSW 75. Mgr Dominka Czaplinska jest pierwszym autorem wszystkich prac wchodzących w skład rozprawy, a załączone oświadczenie potwierdza Jej istotny wkład zarówno w powstaniu koncepcji projektów, jak i ich realizacji. Prace zostały wykonane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki - Preludium oraz Etiuda, stypendium doktoranckiego Naukowej Fundacji Polpharmy i Programu rozwoju Uniwersytetu Gdańskiego w obszarach Europa 2020. Opublikowanie trzech prac oryginalnych wchodzących w skład cyklu w czasopismach o zasięgu międzynarodowym (*Biochimica and Biophysica Acta, Tumour Biology, Folia Histochemica and Cytobiologica*) świadczy o docenieniu ich merytorycznej wartości przez recenzentów i redakcje tych czasopism.

W powyższych pracach przedstawiono trzy poziomy analizy szlaku FGF/FGFR/RSK: *in vitro* w modelach komórkowych, *in vivo* w modelu mysim oraz materiału tkankowego pochodzącego od chorych na raka piersi. Badania w modelach komórkowych wykazały, że RSK2 pełni podwójną funkcję w regulacji FGFR2, a mianowicie jest kluczowym białkiem ścieżki sygnalizacyjnej indukowanej przez FGF2/FGFR2 i reguluje internalizację FGFR2 w odpowiedzi na czynniki wzrostu. Wykazano w nich również, że w procesie aktywacji FGFR2→RSK2 kluczowym mediatorem jest kinaza serynowo-treoninowa p38. Aczkolwiek fosforylacja Tyr529 z udziałem p38 wymaga współdziałania innych białek, które dotychczas nie zostały zidentyfikowane. Badania na modelu zwierzęcym potwierdziły, że aktywacja kinazy RSK1 związana jest w mysim modelu trójjemnego raka piersi (linia 4T1) z rozsiewem do płuc. Podobnie u chorych na raka piersi o fenotypie trójjemnym ekspresja FGFR2 i/lub aktywnej formy RSK wiązała się z gorszym rokowaniem i krótszym czasem przeżycia wolnego od nawrotu choroby. Przedstawione wyniki potwierdzają, że aktywacja ścieżki FGFR2→RSK2 związana jest z progresją raka piersi, a kinazy RSK 1 i RSK2 mogą stanowić potencjalne cele terapeutyczne. Szereg nowych związków ukierunkowanych na selektywne zablokowanie FGFR2 i innych receptorów FGF jest przedmiotem toczących się badań klinicznych. Obecnie w leczeniu kilku typów nowotworów stosuje się nieselektywne inhibitory kinaz tyrozynowych m.in. działające na FGFR - lenwatinib, regorafenib, ponatynib, nintedanib.

W mojej opinii założenia i cele w poszczególnych badaniach zostały sformułowane w sposób zrozumiały i jednoznaczny, materiał i metody zostały przedstawione poprawnie. Pewne

zastrzeżenia budzi opis badanej grupy chorych na raka piersi (str. 43 Tabela 1), podane są jedynie parametry histologiczne a nie kliniczno-histologiczne. Brak jest informacji o rodzaju leczenia chirurgicznego, radioterapii uzupełniającej i terapii systemowej. Tak więc większość wykonanych analiz szlaku FGFR2-RSK2 w rzeczywistości dotyczy jedynie ich związku z parametrami histologicznymi a nie kliniczno-histologicznymi (str. 61, Tabela 3). Trochę intrygujące są wyniki korelacji pomiędzy ekspresją RSK2 i FGFR2 zarówno na poziomie mRNA, jak i białka zwłaszcza w podtypie trójjemnego raka piersi, a jednocześnie korelacja FGFR2 z pozytywnym statusem ER, a genu *RSK2* z negatywnym statusem PR (str. 59). Wydaje się, że w celu określenia rzeczywistej wartości prognostycznej FGFR2-RSK2 w poszczególnych fenotypach raka piersi konieczne są badania na większej populacji chorych, co zresztą postuluje Doktorantka w dyskusji.

Zastosowane metody diagnostyczne i statystyczne odpowiadają dobrym standardom i zostały właściwie opisane. Wyniki przeprowadzonych badań zostały przedstawione w sposób szczegółowy, ilustrowane są dobrze skomponowanymi tabelami i czytelnymi rycinami. Przedstawione wnioski znajdują pełne odzwierciedlenie w uzyskanych wynikach, są sformułowane jasno i jednoznacznie.

W pracy znalazłam kilka drobnych błędów językowych w tłumaczeniu na język polski np. str. 76 „screening” zamiast skringing, str. 63 „czas wolny od objawów choroby (DFS)” zamiast „czas wolny od nawrotu choroby” oraz kilka nieścisłości w opisie zagadnień klinicznych we wstępie (str. 17) dotyczących stosowania leku pertuzumab, lapatynib i ewerolimus w leczeniu raka piersi.

Podsumowując, przedstawiony do oceny cykl prac stanowiący rozprawę doktorską mgr Dominiki Czaplińskiej stanowi dojrzałe i wartościowe opracowanie ważnego zagadnienia, jakim jest znaczenie biologiczne i kliniczne szlaku FGF/FGFR oraz kinaz RSK w progresji raka piersi. Obok wyżej wymienionych walorów naukowych, rozprawa posiada także potencjalne znaczenie aplikacyjne. Praca w pełni odpowiada kryteriom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii, określonych w Ustawie o Stopniach i Tytułach Naukowych. Na tej podstawie zwracam się do Wysokiej Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie mgr Dominki Czaplińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Renata Duchnowska, prof. nadzw. WIM

