

dr hab. Małgorzata Gajewska, prof. SGGW
Zakład Biochemii i Dietetyki
Katedra Nauk Fizjologicznych
Instytut Medycyny Weterynaryjnej
SGGW w Warszawie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Kamila Mieczkowskiego pt. „Znaczenie FGFR2 w progresji i terapii luminalnych raków piersi” wykonanej na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem promotora dr hab. Rafała Sądeja, prof. GUMed.

Nowotwór złośliwy gruczołu sutkowego, nazywany rakiem piersi, jest nowotworem wywodzącym się z nabłonka przewodów lub zrazików gruczołu sutkowego, początkowo rozwijającym się miejscowo w piersi, z możliwością przerzutowania za pośrednictwem naczyń chłonnych i krwionośnych do węzłów chłonnych i narządów odległych. Rak piersi jest drugim po raku płuc najczęściej diagnozowanym nowotworem na świecie i najczęściej występującym nowotworem wśród kobiet, zarówno w bardziej, jak i mniej rozwiniętych regionach świata. W Polsce obserwowany jest niepokojący trend wzrostu liczby zachorowań, jak i zgonów spowodowanych rakiem piersi u kobiet. Siedemdziesiąt procent zachorowań na nowotwory gruczołu sutkowego stanowią hormono-zależne raki piersi. Przyjmuje się, że estrogeny są promotorami końcowej fazy rozwoju nowotworu, przyspieszającymi wzrost istniejących już, lecz klinicznie niezdiagnozowanych guzów. Z kolei wpływ progestagenów na wywołaną przez estrogeny aktywność mitotyczną komórek nowotworowych może być synergistyczny lub antagonistyczny. Oddziaływanie steroidów płciowych na komórki jest zależne od ekspresji receptorów dla tych hormonów oraz aktywacji szlaków sygnałowych regulujących aktywność mitotyczną i zdolność komórek do podlegania śmierci apoptotycznej. We współczesnej nauce oraz medycynie obok czynników genetycznych i endokrynnych, wpływających na rozwój raka piersi badany jest również wpływ mikrośrodowiska, w skład którego wchodzi obok intensywnie proliferujących komórek nowotworowych, również komórki prawidłowe, stanowiące ich najbliższe otoczenie. Fibroblasty rekrutowane przez nowotwór są jednym z najliczniejszych typów komórek w mikrośrodowisku guzów. Oddziałują one z komórkami nowotworowymi poprzez bezpośrednie interakcje, jak również w sposób pośredni, poprzez wydzielane parakrynnie substancje aktywne. Badania pokazują, że fibroblasty związane z nowotworem promują wzrost komórek nowotworowych przez wydzielanie cytokin i czynników wzrostu; są zdolne do modyfikacji macierzy zewnątrzkomórkowej poprzez wydzielanie metaloproteinaz, ułatwiając tym samym proces przerzutowania; stymulują angiogenezę poprzez wytwarzanie czynników proangiogennych; promują beztlenowy metabolizm komórek nowotworowych oraz umożliwiają ucieczkę spod nadzoru układu odpornościowego. Biorąc pod uwagę powyższe informacje, należy stwierdzić, że cel pracy doktorskiej Pana mgr Kamila Mieczkowskiego, którym było zbadanie wpływu FGFR2 - jednego z receptorów dla czynnika wzrostu fibroblastów 7 (FGF7) na wzajemne oddziaływanie receptorów dla estrogeny i progesteronu oraz przeanalizowanie znaczenia tego wpływu w progresji i terapii luminalnych raków piersi, był

celem zdecydowanie zasadnym, a badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej są niezwykle wartościowe.

Rozprawa doktorska mgr Kamila Mieczkowskiego została przedstawiona do recenzji w postaci 122-stronicowej wersji drukowanej formatu A4 w sztywnej oprawie. Układ dysertacji jest tradycyjny i zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim, spis treści, wykaz skrótów, wstęp, cel badań, materiały, metody, wyniki, dyskusję oraz piśmiennictwo. Brak jest natomiast syntetycznie wypunktowanych wniosków, które tradycyjnie zamieszczane są po przeprowadzonej przez Autora dyskusji otrzymanych wyników. To przeoczenie uważam za istotne i powrócę do niego w dalszej części recenzji. Rozprawa zawiera 6 tabel i 21 rycin wkomponowanych w tekst. Spis cytowanej literatury jest niezwykle bogaty, ponieważ składa się aż z 266 prac, z czego 156 pochodzi z ostatnich 10 lat (co stanowi ok. 59% cytowanych artykułów), a wśród nich aż 89 pozycji literaturowych pochodzi z ostatnich 5 lat. Pięć cytowanych artykułów stanowi dorobek zespołu naukowego, w którym Doktorant pracował. Należy podkreślić ogromną staranność z jaką Pan Kamil Mieczkowski przygotował niniejszą dysertację. Praca napisana jest bardzo ładnym językiem, przedstawiając w sposób przystępny zagadnienia będące tematem powyższej rozprawy doktorskiej.

We wstępie Doktorant opisuje aktualne dane dotyczące częstości zachorowań na raka gruczołu piersiowego w Polsce i na świecie, etiologię tej choroby oraz sposoby klasyfikacji raka piersi oparte na obrazie histologicznym, stopniu zróżnicowania komórek nowotworowych oraz występowaniu przerzutów do węzłów chłonnych. Przedstawia również klasyfikację opartą na analizie immunohistochemicznej ekspresji podstawowych markerów – receptorów dla hormonów steroidowych (ER i PR), receptora HER2 dla ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu oraz białka Ki-67, świadczącego o aktywności proliferacyjnej komórek nowotworowych. Klasyfikacja oparta na charakterystyce molekularnej odgrywa największe znaczenie dla stawianych przez Autora w dalszej części rozprawy hipotez badawczych. Stosując zasadę opisu „od ogółu do szczegółu” Doktorant w kolejnych podrozdziałach wstępu szczegółowo charakteryzuje budowę i funkcje receptorów estrogenowego oraz progesteronowego, ich ekspresję na komórkach raka gruczołu sutkowego i ogromne znaczenie analizy ekspresji tych hormonów steroidowych w doborze leczenia oraz rokowaniu. Opisuje również różne szlaki sygnałowe indukowane przez aktywację receptorów dla estrogenu (E2) i progesteronu (P4), uwzględniając klasyczny szlak genomowy, alternatywny szlak genomowy oraz szlak niegenomowy pośredniczony przez receptory związane z błonami komórkowymi, dzięki którym możliwa jest szybka ścieżka aktywacji sygnału zewnątrzkomórkowego. Bardzo ciekawy jest podrozdział 1.2.5 opisujący najnowsze informacje na temat znaczenia receptora progesteronowego w rozwoju raka piersi. W tym podrozdziale Autor podkreśla, że utrata ekspresji PR wiąże się z gorszą odpowiedzią na terapie endokrynne oraz częściowo hormono-niezależny wzrost guza nowotworowego. Ponadto przedstawia wzajemne zależności pomiędzy receptorami dla estrogenów i progesteronu, które mogą tworzyć kompleksy modulujące aktywność receptorów estrogenowych. Następnie Autor przechodzi do omawiania znaczenia mikrośrodowiska guza w rozwoju choroby nowotworowej, skupiając się przede wszystkim na fibroblastach wchodzących w skład guza, które poprzez wydzielanie cząsteczek sygnałowych działają na komórki nowotworowe zarówno w sposób bezpośredni, poprzez oddziaływania międzykomórkowe, jak i poprzez oddziaływania parakrynne, ze względu na zdolność wydzielania cząsteczek sygnałowych, do których zaliczane są czynniki wzrostu fibroblastów badane przez Doktoranta w niniejszej pracy doktorskiej. Dalej, Autor szczegółowo opisuje szlaki sygnałowe

aktywowane przez czynniki wzrostu fibroblastów oraz ich receptory w odniesieniu do wzajemnych zależności pomiędzy aktywacją receptorów estrogenowych oraz progesteronowych a szlakami pośredniczącymi przez aktywny receptor FGFR2. Cały wstęp uważam, za bardzo dobrze napisany, stanowiący kompendium wiedzy na temat najnowszych badań dotyczących złożonych oddziaływań pomiędzy receptorami dla hormonów steroidowych a receptorami dla czynników wzrostu wydzielanych przez fibroblasty zasiedlające guzy oraz na temat molekularnych mechanizmów regulujących progresję raka piersi. Doskonałym uzupełnieniem są 3 ryciny, które pomagają czytelnikowi lepiej zrozumieć skomplikowane molekularne mechanizmy działania białek opisywanych w pracy. Mam jedynie drobną uwagę dotyczącą używania w niektórych miejscach zwrotów będących dosłowną kalką z języka angielskiego. Na stronie 26 znajduje się zdanie na temat roli fibroblastów opartej o rozbudowaną **jukstakrynną** komunikację ze wszystkimi komponentami mikrośrodowiska guza. W języku polskim komunikację jukstakrynną można określić mianem komunikacji międzykomórkowej. Na tej samej stronie użyto również zwrotu „*tranzycja epithelialno-mezenchymalna*”, którą poprawnie po polsku można byłoby opisać jako przemianę nabonkowo-mezenchymalną. Ponadto sformułowanie „*mutacje missensowne*” znajdujące się na stronie 31, sugerowałabym zastąpić określeniem „mutacje zmiany sensu”, aby nie było prostym „spolszczeniem” angielskiej frazy. Te uwagi w niczym jednak nie pomniejszają wartości doskonale opracowanego pierwszego rozdziału.

W kolejnej części pracy Autor bardzo szczegółowo i skrupulatnie opisał zastosowaną w toku swoich badań metodykę. Dobrym rozwiązaniem był podział materiałów i metod na dwa osobne rozdziały. W rozdziale 3 - *Materiały* Doktorant uwzględnił informacje dotyczące zastosowanych linii komórkowych razem ze źródłem ich pochodzenia, pożywek oraz suplementów do hodowli *in vitro*, plazmidów i shRNA oraz odczynników do klonowania, materiałów do izolacji RNA oraz przeprowadzenia reakcji PCR w czasie rzeczywistym, buforów stosowanych w doświadczeniach z podaniem ich szczegółowego składu oraz przedstawił listę wszystkich użytych przeciwciał pierwszo- i drugorzędowych. W przypadku przeciwciał dobrze byłoby podać oprócz nazwy producenta również numery katalogowe, ponieważ w większości przypadków producenci dysponują więcej niż jednym przeciwciałem swoistym dla danego białka. Z kolei niepotrzebne było wyszczególnianie na stronie 45 odczynników wchodzących w skład zestawu do oznaczania stężenia białka firmy Bio-Rad, ponieważ informacja zawiera jedynie enigmatyczne nazwy Odczynniki S, Odczynnik A oraz Odczynnik B, bez podania ich składu, który prawdopodobnie jest tajemnicą producenta zestawu. W rozdziale 4 - *Metody* Autor w sposób bardzo przystępny opisuje metodykę zastosowaną w pracy doktorskiej. Mam jednak kilka pytań, które mają na celu uściślenie niektórych informacji przedstawionych w tej części rozprawy doktorskiej.

- 1) W podrozdziale 4.6, opisującym metodykę elektroforezy białek w żelu poliakrylamidowym, podano informację o objętości próbek (20 μ l), która była наносzona do studzienek w żelu. Tym czasem bardziej istotna byłaby informacja o ilości białka наносzonego na żel, podana w μ g/studzienkę.
- 2) W podrozdziale 4.11. opisującym test PLA autor powinien wyjaśnić ogólną zasadę działania tego testu sprawdzającego interakcje pomiędzy specyficznymi białkami, ponieważ nie jest to metoda tak powszechnie stosowana, jak np. immunoprecypitacja. Osobiście nie miałam okazji używać testu PLA w swoich badaniach i musiałam poszukać informacji na jego temat w czasie przygotowywania recenzji niniejszej rozprawy doktorskiej. Poza tym w opisie samej procedury

pojawia się informacja o zastosowanych stężeniach E2 (50nM) i P4 (500 nM), które były pięciokrotnie wyższe niż w przypadku innych doświadczeń wykonanych w ramach pracy doktorskiej. Zdaniem recenzentki wartości te podano przez pomyłkę, ponieważ w rozdziale opisującym wyniki widnieje informacja o zastosowaniu niższych stężeń hormonów steroidowych, takich jak w pozostałych doświadczeniach.

- 3) Dość istotnym błędem było pominięcie informacji na temat analizy statystycznej uzyskanych wyników. Nie wiadomo jakie testy statystyczne zostały użyte oraz w jaki sposób zaprezentowano wyniki. Czy widoczne na wykresach słupki błędów przedstawiają odchylenia standardowe (SD), czy błąd standardowy (SEM)?

Następny rozdział dysertacji opisuje wyniki przeprowadzonych doświadczeń. Na 30 stronach zostały bardzo starannie przedstawione uzyskane obserwacje, a do opisu zostały dołączone zestawienia wyników w formie 17 rycin i 5 tabel. Uważam, że model kultur przestrzennych na Matrigelu został właściwie dobrany do celów pracy doktorskiej. Doktorant w sposób logiczny i uporządkowany opisuje uzyskane wyniki, uzupełniając je o komentarze, będące pewnego rodzaju wnioskami z uzyskanych obserwacji. Początkowo Autor pokazuje, że estrogen i progesteron wywierały przeciwstawne działanie na komórki raka piersi linii T47D. Estrogen promował wzrost komórek, natomiast progesteron hamował ten wzrost. Pod wpływem jednoczesnego traktowania komórek linii T47D progesteronem i FGF7 wykazano znoszenie przez ten czynnik wzrostu hamującego wpływu progesteronu, obserwując tworzenie sferoidów istotnie większych w porównaniu do struktur przestrzennych tworzonych przez komórki inkubowane w pożywce wzbogaconej samym progesteronem. Używając komórek linii T47D z wyciszonym genem receptora FGFR2 Doktorant potwierdził, że FGF7 oddziaływał na komórki linii T47D poprzez aktywację tego receptora. Wykonując podobne doświadczenia z użyciem P4 i FGF7 na komórkach luminalnego raka piersi linii MCF7 Autor otrzymał odwrotne wyniki, pokazujące mitogenne właściwości P4 oraz brak dodatkowego efektu stymulacji proliferacji komórek linii MCF7 pod wpływem dodatku czynnika FGF7. Te obserwacje skłoniły Doktoranta do weryfikacji poziomu ekspresji receptorów dla hormonów steroidowych stosowanych w pracy oraz dla receptora FGFR2 w 10 różnych liniach luminalnego raka piersi, przy użyciu metody Western-blot. Tu pragnę podkreślić ogrom pracy, którą Doktorant wykonał w celu doboru właściwego modelu badawczego do dalszych etapów pracy. Na podstawie uzyskanych wyników wybrano linię T47D oraz CAMA-1, jako komórki posiadające ekspresję wszystkich trzech receptorów i wykazujące podobną odpowiedź na podawane czynniki doświadczalne. W tym miejscu, z obowiązku recenzenta, mam kilka pytań do Autora rozprawy doktorskiej:

- 1) Jak wytłumaczy Pan różnice w ekspresji receptorów ER i PR w testowanych w pracy liniach komórkowych w kontekście wyników prezentowanych przez innych autorów (np. Dai i wsp., *Journal of Cancer*, 2017; 8(16): 3131-3141. doi: 10.7150/jca.18457)? Komórki linii BT483 uznawane są za linię wykazującą ekspresję obydwu receptorów, tym czasem z ryciny 9 wynika, że ekspresja ta była na bardzo niskim poziomie w porównaniu do innych analizowanych linii komórkowych. Podobnie jest z linią BT474, w przypadku której wykazał Pan wysoką ekspresję PR, lecz niski poziom ER, a literatura podaje, że komórki te powinny być ER+. Linia MCF7 również uznawana jest za ER+PR+, natomiast wyniki analizy Western-blot sugerują niski poziom receptora PR w porównaniu do ekspresji w komórkach linii T47D. W jaki sposób można

więc wytłumaczyć silny efekt proliferacyjny w komórkach linii MCF7 indukowany w obecności P4?

- 2) Linia CAMA-1 wytypowana przez Autora dysertacji do dalszych doświadczeń, oprócz tego, że posiada ekspresję receptorów ER, PR oraz FGFR2 oraz podobną do komórek linii T47D reakcję na działanie hormonów steroidowych i FGF7, wykazuje również znacznie odmienną morfologię struktur przestrzennych tworzonych przez te komórki wysiane na Matrigelu, w porównaniu do sferoidów tworzonych przez komórki linii T47D. Struktury tworzone przez komórki linii CAMA-1 były groniaste, a nie sferyczne, co może sugerować niższy poziom zróżnicowania tych komórek w porównaniu do komórek luminalnego raka piersi linii T47D (polecam artykuł Kenny i wsp., *Mol Oncol.* 2007;1(1):84-96. doi: 10.1016/j.molonc.2007.02.004). W omawianych wynikach oraz w dyskusji ten fakt został pominięty. Komórki linii CAMA-1 wyizolowane zostały z gruczolakoraka, natomiast komórki T47D wyizolowano z inwazyjnego raka przewodowego. Różniło je zarówno pochodzenie, jak i poziom ekspresji receptora FGFR2, który był znacznie niższy w komórkach CAMA-1 niż w przypadku komórek T47D. Czy te różnice mogły wpływać na niektóre procesy będące przedmiotem badań Doktoranta? Na przykład uzyskane metodą PLA wyniki pokazują, że liczba kompleksów receptorów ER-PR tworzonych pod wpływem stymulacji E2 i P4 była znacznie niższa w jądrach komórek linii CAMA-1 niż T47D. Proszę o komentarz.

W dalszej części pracy Autor wykazał, że FGF7 w obecności hormonów steroidowych przyczyniał się do obniżenia poziomu ekspresji PR, a mechanizm ten by pośredniczony przez receptor FGFR2. Ponadto, pod wpływem FGF7 dochodziło do redukcji wzajemnych oddziaływań receptorów ER i PR. Bardzo interesujące były wyniki pokazujące, geny ER-zależne podlegające regulacji przez FGF7 w obecności hormonów steroidowych. Wśród nich znalazły się geny, których produkty białkowe uczestniczą w regulacji przeżycia i śmierci komórek (*BCL2L1*, *IRS1*, *BMP4*, *MMP9*, *BRCA1*). Badania te wykonano jedynie na komórkach linii T47D. Ciekawe byłoby wykonanie analogicznej analizy z użyciem RT² Profiler PCR Array na komórkach CAMA-1 traktowanych E2, P4 oraz czynnikiem wzrostu FGF7, w celu sprawdzenia, czy podobne geny ER-zależne byłyby regulowane przez FGF7 w komórkach wykazujących odmienną morfologię w hodowli na zrekonstruowanej błonie podstawnej. Konsekwencją otrzymanych wyników, było przeprowadzenie na dalszych etapach badań analizy mającej na celu identyfikację szlaków sygnałowych aktywowanych przez FGF7 i receptor FGFR2 i zaangażowanych w regulację funkcji ER oraz PR w komórkach luminalnego raka piersi. Tym razem Doktorant do opracowanego modelu badawczego dołożył inkubację z szeregiem związków prowadzących do zahamowania aktywności kinaz oraz białek sygnałowych uczestniczących w wybranych szlakach sygnalizacji komórkowej. Otrzymane wyniki pozwoliły stwierdzić, że szlak z udziałem kinazy JNK jest kluczowym mediatorem zależności pomiędzy aktywowanym przez FGF7 receptorem FGFR2, a receptorami dla hormonów steroidowych (ER i PR). Ostatnim etapem doświadczeń na modelu *in vitro* było wykazanie wpływu FGF7 na efekty działania antagonisty ER: 4-hydroksytamoksyfenu, leku anti-estrogenowego powszechnie stosowanego w terapii przeciwnowotworowej. W przypadku inkubacji komórek linii T47D i CAMA-1 w pożywce zawierającej dodatek wszystkich czynników doświadczalnych: 4-OHT, E2, P4 oraz FGF7, czynnik wzrostu fibroblastów-7 nasilał wzrost komórek obydwu linii, znosząc działanie 4-OHT, podczas gdy komórki traktowane wyłącznie E2 i 4-OHT lub E2, P4 i 4-OHT wykazywały istotnie niższy potencjał proliferacyjny, tworząc wyraźnie

mniejsze struktury przestrzenne na Matrigelu. Uzyskane wyniki wskazują na możliwe zaangażowanie szlaku sygnałowego indukowanego przez FGF7 w proces wykształcania w komórkach nowotworowych oporności na terapię anti-estrogenowe, co może mieć ogromne znaczenie dla przyszłych badań nad tworzeniem nowych rozwiązań w terapiach przeciwnowotworowych.

Ostatnim etapem pracy doktorskiej Pana mgr Kamila Mieczkowskiego była analiza ekspresji genów, które w badaniach *in vitro* wykazywały regulację pod wpływem FGF7 oraz hormonów steroidowych, w tkankach guzów pochodzących od pacjentek ze zdiagnozowanym, hormono-zależnym rakiem piersi. Ta część pracy zasługuje na szczególne uznanie, ponieważ Doktorant miał możliwość wykorzystania materiału klinicznego w celu weryfikacji części hipotez stawianych podczas doświadczeń *in vitro*. Ekspresję wybranych genów przeanalizowano w tkankach od 226 pacjentek, ze zdiagnozowanym ER+PR+ inwazyjnym rakiem piersi, przy czym zdecydowana większość próbek pochodziła od pacjentek postmenopauzalnych, a jedynie 32 guzy pochodziły od pacjentek przedmenopauzalnych. Zaprezentowane wyniki poziomu ekspresji wybranych genów w materiale klinicznym mają ogromną wartość poznawczą i mogą w przyszłości pomóc w wyznaczeniu nowych molekularnych markerów diagnostycznych. Mam jednak kilka wątpliwości, odnoszących się do tej części rozprawy doktorskiej:

- 1) Guzy pochodzące od pacjentek postmenopauzalnych stanowiły najliczniejszą grupę badaną, jednak ten materiał badawczy nie odpowiadał w pełni warunkom doświadczeń z części *in vitro* pracy, w której kluczowymi czynnikami doświadczalnymi, indukującymi aktywność receptorów steroidowych był E2 oraz P4. Stężenie tych steroidów u kobiet po menopauzie jest istotnie niższe niż u kobiet w wieku przedmenopauzalnym. W przypadku E2 stężenie to wynosi poniżej 30 pg/ml, a stężenie P4 jest zbliżone do stężenia z fazy wzrostowej cyklu, czyli od 0,1 do 0,4 ng/ml. Są to więc stężenia znacznie niższe od tych stosowanych w doświadczeniach *in vitro*. W dyskusji nie uwzględniono tego czynnika. Pojawia się natomiast uogólnione stwierdzenie, iż sygnalizacja FGF7/FGFR2 związana jest z hormono-zależną stymulacją wzrostu komórek nowotworowych oraz wykształcającą się opornością na terapię nowotworowe. Z drugiej strony badania na materiale klinicznym wykazały, że u pacjentek postmenopauzalnych ekspresja FGFR2 jest dobrym czynnikiem rokowniczym. Proszę o komentarz.
- 2) Po przeprowadzeniu analizy korelacji Spearmana udało się Doktorantowi wykazać statystycznie istotne korelacje pomiędzy poziomem receptora FGFR2 a ekspresją 9 genów w grupie wszystkich pacjentek, ekspresją zaledwie 2 genów w grupie pacjentek przedmenopauzalnych oraz 4 genów w grupie pacjentek postmenopauzalnych. Wartość współczynnika korelacji była najwyższa w przypadku genu *JUNB* oraz *S100A6* i wynosiła odpowiednio 0.51 i 0.48. W przypadku reszty statystycznie istotnych genów współczynnik korelacji miał wartość od 0.15 do 0.25, co świadczy o słabej korelacji pomiędzy ekspresją analizowanych genów a poziomem FGFR2. W pracy brakuje komentarza odnoszącego się do tej obserwacji, dlatego prosiłabym o przedstawienie opinii o faktycznym znaczeniu słabych korelacji.
- 3) Tabela 2 wydaje się być niedokończona i początkowo trudna do zrozumienia dla czytelnika. Lepiej byłoby na początku tabeli przedstawić dane liczbowe dotyczące liczby wszystkich guzów ER+ uwzględnionych w badaniu, a dopiero później dokonać podziału na guzy ER+PR+.

Na końcu rozdziału 5 Autor dokonuje syntetycznego podsumowania uzyskanych wyników, co jest bardzo dobrym rozwiązaniem. Następnie przechodzi do szczegółowego omówienia i

skonfrontowania wyników swoich badań z dostępną literaturą w oddzielnym rozdziale 6 -Dyskusja. Wysoko oceniam zarówno formę, jak i merytoryczną stronę tej dyskusji. Pod koniec rozdziału Autor wskazuje możliwości wykorzystania danych otrzymanych w toku swoich badań w planowaniu nowych strategii terapeutycznych u pacjentek z luminalnym rakiem piersi, podkreślając istotne zaangażowanie FGFR2 w hormono-zależny wzrost komórek nowotworowych oraz w hamowanie efektywności tamoksyfenu przez szlak aktywowany przez FGF7/FGFR2. Niestety w rozprawie doktorskiej zabrakło rozdziału, w którym zostałyby wypunktowane najważniejsze wnioski wynikające z przeprowadzonych badań i obserwacji. Wnioski te czytelnik może znaleźć w rozdziałach *Wyniki* oraz *Dyskusja*, jednak zwyczajowo przyjęte jest aby przedstawione były w sposób syntetyczny w osobnym rozdziale, pod koniec rozprawy doktorskiej.

Na koniec pragnę podkreślić, że pomimo uwag i pytań zawartych w recenzji pracę doktorską mgr Kamila Mieczkowskiego oceniam bardzo wysoko i uważam, że otrzymane wyniki stanowią bardzo istotny wkład w poszerzanie wiedzy na temat wpływu czynników parakrynych wydzielanych przez fibroblasty, na rozwój komórek raka gruczołu sutkowego.

Wniosek końcowy

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Kamila Mieczkowskiego pt. „Znaczenie FGFR2 w progresji i terapii luminalnych raków piersi” odpowiada warunkom określonym 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. z 2016 r. poz. 882 i 1311) i wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Kamila Mieczkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na wysoką ocenę merytoryczną pracy doktorskiej wnioskuję o jej wyróżnienie.

Warszawa, dnia 16 września 2020 r.


dr hab. Małgorzata Gajewska