

Białystok, 28.05.2021

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Pawła Wintera, pt.

„Wartość predykcyjna i prognostyczna stężeń biomarkerów proliferacji i transformacji nowotworowej: receptora naskórkowego czynnika wzrostu 3, kinazy tymidynowej 1 i kinazy Aurory A u chorych na raka piersi poddanych chemioterapii przedoperacyjnej”, wykonanej pod kierunkiem Pani **dr hab. n. med. Beaty Kotowicz (prof. inst., promotor)** i **dr n. med. Agnieszki Jagiello-Grusfeld (promotor pomocniczy)**.

Rak piersi jest obecnie najczęstszym nowotworem złośliwym u kobiet, zarówno w Polsce jak i na świecie, a jego zachorowalność i umieralność ciągle wzrasta. Badania nad rakiem piersi są obecnie wyzwaniem dla współczesnej onkologii, stanowiąc zainteresowanie badawcze wielu naukowców i klinicystów. Obecnie ciągle poszukuje się nowych czynników diagnostycznych i predykcyjnych raka piersi, a duże znaczenie w tym aspekcie mają tzw. markery tkankowe (HER, Ki67, receptory ER/PgR), które mogą wskazywać na potencjalną odpowiedź na zastosowane leczenie i tym samym przyczyniły się do wprowadzenia do klinicznej praktyki onkologicznej terapii celowanej, przez co uzyskano poprawę wskaźnika śmiertelności.

Obecnie mimo intensywnych i wielośrodkowych badań nowych biomarkerów żaden nie spełnił wszystkich kryteriów, stawianych markerom nowotworowym, a klasyczny marker raka piersi (CA 15-3) ze względu na niską czułość okazał się nieprzydatny w praktyce klinicznej, przez co nie jest rekomendowany przez towarzystwa naukowe do wczesnej diagnostyki raka piersi. Dlatego też konieczne jest poszukiwanie nowych czynników, które mogą być przydatne w diagnostyce i monitorowaniu leczenia raka piersi (radioterapii,

hormonoterapii i chemioterapii), a także w ocenie radykalności całkowitego usunięcia guza w leczeniu operacyjnym.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. med. Pawła Wintera, pt. „Wartość predykcyjna i prognostyczna stężeń biomarkerów proliferacji i transformacji nowotworowej: receptora naskórkowego czynnika wzrostu 3, kinazy tymidynowej 1 i kinazy Aurory A u chorych na raka piersi poddanych chemioterapii przedoperacyjnej”, to bardzo obszerne opracowanie naukowe, liczące łącznie 133 strony, podzielone na rozdziały typowe dla dysertacji doktorskich, tj.: „Wstęp” – 48 stron; „Cel pracy” – 1 strona; „Materiały i metody” – 3 strony; „Wyniki badań” – 21 stron; „Dyskusja” – 17 stron; „Wnioski” – 1 strona; „Streszczenie w wersji polskiej i angielskiej” – po 2 strony; „Piśmiennictwo” – 25 stron, 295 pozycji. Praca zawiera łącznie 38 tabel i 32 ryciny. Należy zauważyć, iż pomimo ogromnej ilości wyników, tabele i ryciny mają przejrzystą formę graficzną. Niestandardowym układem pracy jest zamieszczenie części tabel z rozdziału „Wstęp” i jednej z rozdziału „Materiały i metody” w formie „Załącznika” (liczącego 10 stron) na końcu pracy, co w mojej ocenie nie stanowi błędu, jednakże kłopot czytającemu, w tym recenzentowi, w poszukiwaniu treści tabel nie po informacji w tekście manuskryptu, ale na końcu pracy. Załącznik nie obejmuje jednak wszystkich Tabel, gdyż część z nich znalazła się w rozdziale „Wstęp”, co stanowi pewną niekonsekwencję Autora, dlaczego wstawiono w pracy te tabele, a inne w załączniku.

Wstęp pracy to studium bardzo rozległego, a zarazem rzetelnego i wnikliwego przedstawienia faktów, związanych z przedmiotem rozprawy doktorskiej, stopniowo wprowadzający czytelnika w jej tematykę, poczynając od opisu piersi, tj. rozwoju płodowego, anatomii i fizjologii. Ponadto Doktorant przedstawia epidemiologię i etiopatogenezę raka piersi, bazując na najnowszych i dostępnych danych literaturowych. Autor przedstawia także współczesną diagnostykę raka piersi, poczynając od objawów klinicznych, badań obrazowych i badań dodatkowych. W dalszej części lek. med. Paweł Winter opisuje klasyfikację

radiologiczną, diagnostykę patomorfologiczną oraz markery tkankowe raka piersi. Przedstawia także podtypy biologiczne raka piersi oraz jego klasyfikację kliniczną, przechodząc w dalszej części do przedstawienia w skrócie współczesnych metod leczenia, zarówno chirurgicznego, systemowego, radioterapii, a także metod leczenia neoadjuwantowego i personalizacji leczenia. Doktorant załączył jednocześnie na rycinach obrazy mammograficzne, USG, MRI piersi, jako opracowanie własne lub pochodzące z własnych zbiorów Autora, co w mojej ocenie świadczy o dużej wiedzy klinicznej lek. med. Pawła Wintera jako lekarza praktyka. Następnie Autor przedstawia potencjalne markery nowotworowe u chorych na raka piersi i ich znaczenie diagnostyczne, a następnie dość szczegółowo, w mojej ocenie, opisuje badane parametry i ich znaczenie biologiczne, tj. kinazę Aurora A – AURKA, receptor naskórkowego czynnika wzrostu 3 - HER3 oraz kinazę tymidynową 1 – TK1.

Cel pracy sformułowano w czterech punktach w sposób zrozumiały i logiczny, co w mojej ocenie - umożliwiło w pełni jego realizację. Moim zdaniem, przedstawiony temat pracy i cele badawcze są niezwykle ważne z klinicznego punktu widzenia, a otrzymane wyniki, oprócz walorów czysto poznawczych i diagnostycznych raka piersi, mogą mieć także znaczenie praktyczne.

W rozdziale „Materiał i metody” Doktorant bardzo dokładnie opisuje dość dużą grupę badaną, liczącą 119 chorych na raka piersi i grupę kontrolną (47 zdrowych kobiet), która według mojej oceny powinna być liczniejsza, aczkolwiek liczebność ta spełnia kryteria do analizy statystycznej wyników badań. Należy zauważyć, iż grupa badana i jej podgrupy, a także grupa kontrolna były, w mojej ocenie, właściwie dobrane w kontekście reprezentatywności, proporcjonalnie według wieku, a także zmian klinicznych.

Autor następnie przedstawia metody badawcze, a zwłaszcza na wyróżnienie zasługuje trafny ich dobór i fachowa metodyka, za co należą się również słowa uznania dla Promotora pracy,

co w mojej ocenie zapewniło uzyskanie w pełni wiarygodnych wyników badań. Należy podkreślić, iż uzyskanie bardzo dużej ilości danych wyników badań było bardzo pracochłonne i wymagało bardzo dużego zaangażowania pracy i wiedzy Doktoranta, jak i jego Promotora i Promotora pomocniczego.

Ponadto Autor prawidłowo wykonał dość skomplikowaną i złożoną analizę statystyczną wyników badań, co dobrze świadczy o przygotowaniu naukowym Doktoranta. Według mojej oceny, Autor powinien wydzielić podrozdział „Analiza statystyczna”, żeby podkreślić złożoność tej analizy, z umieszczeniem wartości odcięcia, nazw testów statystycznych, co byłoby bardziej czytelne.

Doktorant wykazał, iż w grupie badanej chorych na raka piersi poddanych przedoperacyjnemu leczeniu systemowemu (NAT) istnieje ścisła zależność pomiędzy szansą uzyskania całkowitej odpowiedzi patomorfologicznej (PCR) po NAT a cechami kliniczno-patologicznymi – podtypem biologicznym oraz stopniem złośliwości histologicznej w klasyfikacji NGS. Istotny wpływ na całkowitą odpowiedź patomorfologiczną (PCR) po NAT ma brak przerzutów w węzłach chłonnych, brak ekspresji receptora progesteronowego oraz ekspresja Ki67 >20% komórek nowotworu, co ma znaczenie predykcyjne. Spośród badanych biomarkerów, oznaczanie kinazy Aurora A w surowicy krwi chorych na raka piersi przed rozpoczęciem NAT może mieć wartość predykcyjną. Stężenia AURKA > 4,75 ng/mL w surowicy krwi u chorych na raka piersi przed NAT mogą być związane z wyższą szansą uzyskania PCR po NAT, a stężenia < 4,395 ng/mL w surowicy krwi u chorych na raka piersi przed NAT mogą być związane z niższą szansą uzyskania całkowitej odpowiedzi patomorfologicznej (PCR) po NAT. W badanej grupie, przy zastosowaniu wybranych metod oznaczenia stężeń markerów: HER3, AURKA i TK1 w surowicy krwi, oszacowana moc diagnostyczna testów jest niewystarczająca do różnicowania kobiet chorych na raka piersi od

kobiet zdrowych. Oznaczanie stężeń HER3 i TK1 w surowicy krwi w badanej grupie chorych na raka piersi przed NAT nie ma znaczenia predykcyjnego w ocenie PCR po NAT. Stężenia HER3, AURKA i TK1 w surowicy krwi u chorych na raka piersi przed NAT nie mają związku z wiekiem i ze znanymi czynnikami predykcyjnymi. Badane biomarkery, tj. HER3, TK1 a zwłaszcza AURKA mogą być nowymi markerami przydatnymi w praktyce klinicznej, co uważam za cenne odkrycie w aspekcie diagnostyki raka piersi.

Obszernie cytowana literatura we „Wstępie” i w „Dyskusji” wskazuje na słuszność podjęcia wybranej tematyki badawczej. Dyskusja zawiera wiele informacji teoretycznych, obejmujących badania nie tylko raka piersi, ale także inne nowotwory i schorzenia, co sprawia, iż staje się ona zbyt szczegółowa i wydłużona. W „Dyskusji” w przypadku każdego z badanych parametrów Doktorant długo i starannie konfrontuje wyniki badań własnych z dość obszerną literaturą, podkreślając za każdym razem rozbieżności i podobieństwa wyników własnych z osiągnięciami literaturowymi innych autorów.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na nieliczne błędy literowe i interpunkcyjne, a uwzględniając obszerność tekstu ocenianej dysertacji, w mojej ocenie świadczy to o staranności jej napisania. Ponadto na stronie 61 brakuje opisu wartości w tekście i interpretacji diagnostycznej czułości i specyficzności oraz pozytywnej i negatywnej wartości predykcyjnej dla HER3 i TK1, której wartości znajdują się w tabeli 25. Wszystkie tabele (Tabele 30-38) zamieszczone na końcu rozdziału „Wyniki” są nieopisane, aczkolwiek rozumiem zamysł Autora, który opisywał przede wszystkim tylko te uzyskane wyniki, które były znamienne statystycznie lub miały znaczenie diagnostyczne, a opisanie pozostałych wyraźnie powiększyłoby tylko objętość tekstu, nie wnosząc jednocześnie nic odkrywczego. Dlatego też według mojej oceny Autor powinien zamieścić krótki wpis odnośnie tych wyników z informacją, dlaczego są one bez opisu. Powyższe uwagi, ze względu na wartość poznawczą całej pracy, nie umniejszają jednak jakości napisanej rozprawy doktorskiej.

Mozna się zastanowić czy w tak obszernym opracowaniu może jeszcze czegoś zabraknąć? W mojej opinii cennym uzupełnieniem tych badań byłaby ocena porównawcza zmian stężenia badanych parametrów u chorych ze zmianami łagodnymi piersi, np. z *fibroadenoma*, aczkolwiek patrząc na mnogość uzyskanych wyników badań, powyższa dysertacja byłaby zbyt obszerna, ale zapewne będzie to tematem dalszych badań Autora i zespołu badawczego Promotora.

Rozprawę doktorską kończy 7 wniosków, zgodnych z założeniami pracy. Wnioski, moim zdaniem, chociaż są logiczne i odpowiadają na postawione cele, są nazbyt szczegółowe i w dużej mierze są preredagowaniem wyników badań. Należałoby zmniejszyć ich liczbę, np. scalając wniosek 5. i 6, co zapewne będzie skorygowane w publikacjach naukowych, będących „owocem” ocenianej dysertacji.

Spis piśmiennictwa liczy 295 pozycji, z czego 78% pochodzi z ostatnich 10 lat. Co ciekawe, aż 59% pozycji pochodzi z ostatnich 5 lat, co świadczy to o tym, że Doktorant śledził najnowszą i fachową literaturę do momentu zakończenia redakcji rozprawy doktorskiej.

W mojej ocenie, przedstawiona mi rozprawa doktorska jest dobrze zaplanowaną i wykonaną pracą o dużej wartości poznawczej. Zaplanowane cele badawcze zostały przez Doktoranta wykonane rzetelnie, a zastosowanie nowoczesnych metod badawczych oraz zaawansowanych narzędzi statystycznych jest dowodem fachowości, dociekliwości i dokładności, bez których to cech realizacja niniejszej pracy byłaby niemożliwa. Doktorant zrealizował założone cele pracy, a aktualność problemu raka piersi w pełni uzasadnia podjęcie badań, będących podstawą tej rozprawy. Przedłożona mi do recenzji dysertacja spełnia wszelkie kryteria rozprawy doktorskiej, a wyniki i wnioski są interesujące i odkrywcze.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana lek. med. Pawła Wintera, pt. „Wartość predykcyjna i prognostyczna stężeń biomarkerów proliferacji i transformacji

nowotworowej: receptora naskórkowego czynnika wzrostu 3, kinazy tymidynowej 1 i kinazy Aurory A u chorych na raka piersi poddanych chemioterapii przedoperacyjnej” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 13 ust. 1 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 późniejszymi zmianami), jak również w §6 ust. 3 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 roku (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej Curie wniosek o dopuszczenie Pana lek. med. Pawła Wintera do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zakład Medycyny Populacyjnej
i Prewencji Chorób Cywilizacyjnych
15-269 Białystok, ul. Waszyngtona 13a

Podpis recenzenta

Linda Stansoni

Prof. dr hab. Sławomir Ławicki