

Kraków, 22.09.2022r.

Prof. dr hab. n. med. Robert Jach

Recenzja

**Rozprawy doktorskiej lek. Marty Kołodziej- Rzepy
pt. " Porównanie ekspresji wybranych markerów nowotworowych komórek
macierzystych między podgrupą chorych na nowotwory narządów głowy i szyi z
infekcją HPV16 i podgrupą chorych na nowotwory narządów głowy i szyi bez infekcji
HPV16"**

wykonanej pod kierownictwem naukowym Pani dr hab. n. med. Beaty Biesagi, prof. nadzwyczajnej NIO-PIB oraz promotor pomocniczej dr n. med. Anny Muchy- Małeckiej z Zakładu Patomorfologii Nowotworów, Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej- Curie- Państwowego Instytutu Badawczego, Oddziału w Krakowie. Dyrektor Oddziału w Krakowie: prof. dr hab. n. med. Janusz Ryś.

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi pismo Koordynatora ds. przewodów doktorskich Rady Naukowej NIO- PIB P. Prof. dr. n. med. Zbigniewa Noweckiego z dnia 11.05.2022 (RNK-000/262/22, zgodnej z Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (rozdział I, paragraf 6 ust.3).

Źródłem finansowania pracy były środki statutowe NIO- PIB Oddziału w Krakowie oraz projektu badawczego dr hab. n. med. B. Biesagi z Fundacji im. J. Potockiego (nr umowy 263/18)

Rozprawa doktorska lek. Marty Kołodziej- Rzepy dotyczy ważnego zagadnienia epidemiologiczno- onkologicznego jaki jest infekcja wirusami brodawczaka ludzkiego (HPV) i jej związek z niektórymi nowotworami u ludzi, które stają się coraz poważniejszym problemem zdrowia publicznego w ujęciu polskim i globalnym. W swoich badaniach Doktorantka zajęła się związkiem etiologicznym HPV w rozwoju niektórych płaskonabłonkowych raków narządów głowy i szyi (HNSCC). Z badań obserwacyjnych oraz kliniczno- kontrolnych i dobrze zaprojektowanych randomizowanych badań klinicznych (ret) wynika bezpośredni związek pomiędzy przetrwałym zakażeniem wirusami HPV o wysokim

potencjale onkogennym HR HPV, (w tym głównie typów 16,18,31 i 33) a nowotworzeniem w obrębie nabłonków dolnego odcinka narządu rodowego i strefy anogenitalnej obu płci. Wprowadzenie populacyjnych szczepień profilaktycznych przeciwko 9 genotypom/fenotypom najczęściej występujących typów HRHPV doprowadziło w wybranych populacjach do radykalnego spadku zachorowalności na raka szyjki macicy i śródnabłonkową neoplazję szyjki macicy (CIN), będącej prekursorem rsm.

Liczne badania naukowe wykazały, że chorzy na HNSCC HPV dodatnie charakteryzują się lepszym rokowaniem niż chorzy bez towarzyszącej infekcji HPV. Podobne obserwacje dotyczą również chorych z rakiem sromu i pochwy. Jak słusznie zauważa Doktorantka, wyróżnienie chorych na HNSCC z infekcją wirusową o lepszym i gorszym rokowaniu jest szczególnie istotne ze względu na toczące się badania kliniczne dotyczące możliwości deeskalacji leczenia przeciwnowotworowego chorych na HNSCC zależne od HPV. Zatem możliwość identyfikacji czynników prognostycznych i predykcyjnych, na podstawie których będzie można wyróżnić podgrupę chorych z zakażeniem HPV odnoszących korzyść z deeskalacji leczenia jest pilnym wyzwaniem badawczym. Wysznuło hipotezę, że rolę takich czynników mogą odegrać markery komórek macierzystych (CSCs).

Rozprawa doktorska lek. Marty Kołodziej- Rzepy liczy 41 stron i obejmuje: spis stosowanych skrótów, streszczenie, abstract, wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, wprowadzenie, cel pracy, materiał i metody, wyniki, omówienie wyników, wnioski, piśmiennictwo i spis załączników.

Merytoryczna ocena pracy doktorskiej

We wstępie dysertacji, zawartym na trzech stronach, Doktorantka przedstawiła przegląd aktualnej wiedzy dotyczący badanej problematyki nowotworów głowy i szyi (HNSCC). Znajdują się tu dane dotyczące epidemiologii HNSCC szczegółowo opisano środowiskowe oraz wirusowe uwarunkowania HNSCC, podkreślając rolę przewlekłego zakażenia HR HPV16. Opisano 4 metaanalizy obejmujące około 200 badań dotyczące porównania leczenia chorych na OPSCC HPV16 zależne i HPV16 ujemne będące asumptem dla badań klinicznych nad deeskalacją leczenia przeciwnowotworowego u pacjentów z HPV zależnymi OPSCC. Dalej następuje opis prawidłowo dobranych badań klinicznych III fazy dotyczących leczenia radiochemioterapią pacjentów z HPV zależnym OPSCC oraz opis dotychczas poszukiwanych czynników pozwalających na selekcję pacjentów z HNSCC do postępowania deeskalującego leczenie przeciwnowotworowe obejmujące częstość występowania mutacji genów kodujących białka ścieżki sygnałowej kinazy 3- FI i kinazy białkowej AKT lub zmian ekspresji tych białek,

mutacji w genach kodujących czynnik transkrypcyjny Nrf2 i białko p53, ekspresję p16, receptora estrogenowego ER i zmutowanych alleli guza (MATH). Następnie opisano możliwość pełnienia funkcji markerów nowotworowych przez komórki macierzyste raka (CSCs), oraz wczesne białka onkogenne HPV E6 i E7. Część tę kończą prawidłowo sformułowane cztery hipotezy badawcze, zweryfikowane przez również prawidłowo przedstawione cztery cele realizacyjne

Wstęp przygotowany jest starannie, dokładnie i wyczerpująco. Umiejętność syntetycznego przedstawienia zagadnienia badawczego świadczy o dogłębnej wiedzy Autorki.

Autorka posługuje się aktualną wiedzą również z zakresu epidemiologii, biologii molekularnej i onkologii klinicznej. Z edytorskiego punktu widzenia warto zauważyć, że w odniesieniu do wartości policzalnych należy stosować pojęcie „liczby” zamiast „ilość”.

Wysoko oceniam trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność co odzwierciedlają prawidłowo postawione cele szczegółowe i aplikacyjne.

Cel aplikacyjny pracy został postawiony prawidłowo i dotyczy on wskazania potencjalnych czynników prognostycznych związanych z nowotworowymi komórkami macierzystymi w podgrupach chorych na HPV 16- zależnego i HPV 16- niezależnego płaskonabłonkowego raka narządów głowy i szyi celem optymalizacji szacowania rokowania u indywidualnych chorych (medycyna personalizowana). Z tej perspektywy oceniam dobrze prawidłowo postawione cele szczegółowe które obejmują w kolejności: analizę obecności infekcji HPV16 w HNSCC, ocenę wpływu infekcji HPV16 na całkowite i bezobjawowe przeżycia badanych chorych, porównanie ekspresji wybranych markerów CSC (CD44, CD98, ALDH1/2, Oct-3/4, Sox-2, Nanog) pomiędzy grupą chorych na HNSCC z infekcją HPV i grupą bez infekcji, oceną korelacji między analizowanymi cechami epidemiologicznymi, klinicznymi, histopatologicznymi i ekspresją wybranych markerów CSCs, analizę wpływu ekspresji wybranych markerów CSCs na przeżycia całkowite (OS) i bezobjawowe (DFS) u chorych na guzy HPV16 zależne i HPV16- ujemne.

Przeprowadzono analizę retrospektywną danych 155 chorych na płaskonabłonkowego raka narządów głowy i szyi kierując się prawidłowo formułowanymi kryteriami włączenia do badania (błoczki parafinowe pochodziły z różnych szpitali województwa małopolskiego). Zakwalifikowani chorzy leczeni byli w ośrodku w którym przeprowadzono badania będące podstawą rozprawy doktorskiej Wykonano ekstrakcję DNA, analizę obecności HPV16 metodą łańcuchowej reakcji polimerazy z detekcją w czasie rzeczywistym, ocenę ekspresji wybranych

markerów nowotworowych komórek macierzystych na podstawie barwień immunohistochemicznych oraz ocenę barwień immunohistochemicznych.

Obliczenia statystyczne wykonywano przy użyciu programu Statistica v.13.3. Zastosowano prawidłowe testy W Shapiro- Wilka, i statystykę opisową, test t- Studenta, test U Manna- Withneya, x kwadrat Pearsona, metodę Kaplan- Meiera, metodę minimalizacji wartości P testem log- rank oraz model proporcjonalnych hazardów Coxa.

Uzyskane wyniki oceniam wysoko, podobnie jak ich znaczenie dla nauki i praktyki klinicznej.

Wyniki w przejrzystej i ciekawej formie, zaprezentowane na 8 stronach wydruku komputerowego, pozwalają na szczegółowe zapoznanie się z badanymi elementami. Wykresy i tabele są czytelne. Część opisowa wyników nie budzi zastrzeżeń. Zaprezentowane wyniki są interesujące i konstruktywne.

W dyskusji, umieszczonej na 3 stronach dysertacji Doktorantka omówiła bardzo syntetycznie uzyskane wyniki, które szczegółowo zostały opisane w załączonych recenzowanych, opublikowanych pracach będących podstawą niniejszej dysertacji. Dyskusja przeprowadzona jest bardzo interesująco w oparciu o odpowiednio dobrane aktualne dane literaturowe zestawione z uzyskanymi w trakcie badań własnymi wynikami. **Wysoko oceniam ten element dyskusji, który dotyczy możliwości wprowadzenia oznaczenia białek CD44 i Sox-2 do praktyki klinicznej co może przyczynić się do powstania nowych możliwości diagnostycznych oraz terapeutycznych.**

Reasumując dyskusja prowadzona jest wzorowo, widać w niej pasję dociekliwego badacza. Doktorantka bardzo wnikliwie i krytycznie odnosi się do badanej problematyki i własnych uzyskanych wyników, co wskazuje też na głęboką wiedzę i dojrzałość naukową.

Praca zakończona jest 7 wnioskami szczegółowymi, które znajdują oparcie w rzetelnie przeprowadzonej wieloparametrowej analizie materiału jednostki.

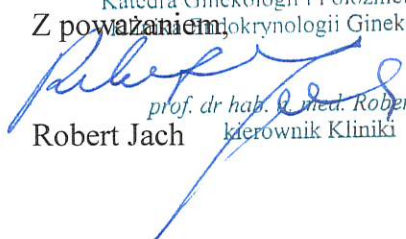
Prawidłowo napisano streszczenie w języku polskim i angielskim. Starannie przygotowana bibliografia obejmuje 43 pozycje ułożona w kolejności cytowań. Dobór cytowań jest właściwy. Bardzo dobrze świadczy o dobrej znajomości tematyki przez Doktorantkę.

Podsumowując pragnę stwierdzić, że lek. Marta Kołodziej- Rzepa wykazała umiejętności prowadzenia badań naukowych, zdolności interpretacji wyników oraz wyciągania wniosków. Rozprawa doktorska lek. Marty Kołodziej- Rzepy charakteryzuje się trafnością wyboru tematu. Praca zredagowana jest bardzo starannie i napisana poprawnym językiem. W ocenie dysertacji na uwagę zasługuje trafność i aktualność metod badawczych zastosowanych

przez Doktorantkę. Ze względu na ciekawą tematykę i dużą wartość poznawczą pracy, stanowi ona podstawę do kontynuowania badań naukowych w tej dziedzinie.

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa lek. Marta Kołodziej- Rzepa spełnia wszystkie wymogi i kryteria, jakim powinna odpowiadać praca na stopień doktora nauk medycznych.

Zwracam się zatem do Szanownej Rady Naukowej NIO- PIB z wnioskiem o dopuszczenie autorstwa lek. Marty Kołodziej- Rzepy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Katedra Ginekologii i Położnictwa UJ CM
Z poważaniem,

prof. dr hab. i med. Robert Jach
Robert Jach kierownik Kliniki