

Prof. dr hab. n. med. Filip Gołkowski

Katedra Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych

Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu

Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego

Kraków, 22 lipca 2022 r

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. Agnieszki Koteckiej-Blicharz

pt. „Kliniczne wykorzystanie badania cytologicznego i molekularnego w podejmowaniu decyzji terapeutycznej w guzkach tarczycy – przygotowanie do wdrożenia testu molekularnego”

Podstawę opracowania recenzji stanowi pismo prof. dr. hab. n. med. Zbigniewa Noweckiego, Koordynatora ds. przewodów doktorskich Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego RNK-000/277/22 oraz przekazana rozprawa doktorska.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska opiera się na trzech publikacjach:

1. Kotecka-Blicharz A, Pfeifer A, Czarniecka A, Oczko-Wojciechowska M, Nożyńska E, Chmielik E, Jarząb M, Jarząb B, Krajewska J. Thyroid nodules with indeterminate cytopathology: a constant challenge in everyday practice. The effectiveness of clinical decisions using diagnostic tools available in Poland.
2. Pol Arch Intern Med. 2021;131(12) doi: 10.20452/pamw.16117. IF 3,277
Kotecka-Blicharz A, Krzempek M, Cortez AJ, Oczko-Wojciechowska M, Czarniecka A, Nożyńska E, Chmielik E, Jarząb B, Krajewska J. The role of thyroid sonographic malignancy risk features when the fine needle aspiration biopsy result is indeterminate. Endokrynol Pol. 2022. doi: 10.5603/EP.a2022.0027. Ahead of print. IF 1,582
3. Oczko-Wojciechowska M, Kotecka-Blicharz A, Krajewska J, Rusinek D, Barczyński M, Jarząb B, Czarniecka A. European perspective on the use of molecular tests in the diagnosis and therapy of thyroid neoplasms. Gland Surg. 2020;9;S69-S76. doi: 10.21037/gs.2019.10.26. IF 2,19.

Zaliczone do rozprawy doktorskiej publikacje wykazują spójność tematyczną i dotyczą istotnego problemu medycznego nie tylko z punktu widzenia poznawczego, ale również jego klinicznych implikacji. Wszystkie prace opublikowane zostały w języku angielskim w renomowanych czasopismach naukowych legitymujących się współczynnikiem oddziaływania IF, którego suma dla wymienionych pozycji podana przez Autorkę wynosi 7,04.

W dwóch z wymienionych artykułach naukowych Doktorantka jest pierwszym, a w jednym drugim autorem, co wskazuje na istotny udział lek. Agnieszki Koteckiej-Blicharz w pracach badawczych i przygotowaniu tekstu publikacji. Potwierdzają to również złożone przez współautorów oświadczenia zamieszczone na końcu rozprawy.

Rozprawa doktorska liczy bez załączników 37 stron. Tekst podzielono na 12 rozdziałów, z których pierwszy poświęcony został wprowadzeniu do zagadnień stanowiących obszar badań, następne wskazują cele całego projektu badawczego, listę publikacji oraz omówienie kolejno każdej z zaliczonej do cyklu pracy, dyskusję, podsumowanie i wnioski końcowe, listę publikacji doktorantki nie będących przedmiotem dysertacji oraz załączniki, które stanowią teksty artykułów naukowych oraz oświadczeń współautorów. Przygotowanie rozprawy doktorskiej w powyższym układzie uważam za właściwe i przedstawiające w przejrzysty sposób całość zrealizowanego projektu badawczego.

W rozdziale „Wprowadzenie” Doktorantka w sposób zwięzły i zgodny z aktualnym stanem wiedzy przedstawiła zagadnienia związane z diagnostyką w przypadku stwierdzenia obecności guzka tarczycy. W rozdziale tym zwrócono uwagę na znaczenie w diagnostyce tyreologicznej algorytmu złożonego z badania ultrasonograficznego z następowym wykonaniem biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej kwalifikujących się do tego postępowania zmian ogniskowych w tarczycy. Autorka omówiła w sposób wystarczający zagadnienia związane z wnioskowaniem o potencjalnej złośliwości guzka w oparciu o powyższy algorytm z uwzględnieniem stosowania klasyfikacji EU-TIRADS w odniesieniu do oceny ultrasonograficznej oraz systemie Bethesda (TBSRTC) w odniesieniu do oceny cytopatologicznej pobranego pod kontrolą usg materiału. Wskazano na korzyści i ograniczenia tych stosowanych obecnie rutynowo metod diagnostycznych, zwłaszcza w przypadku stanowiących około 20% wyników cytologicznie niezdeterminowanych, w których obraz cytologiczny nie pozwala na postawienie jednoznacznego rozpoznania. Doktorantka wskazała następnie na możliwości zwiększenia zgodności rozpoznania cytopatologicznych z ostatecznym rozpoznaniem histopatologicznym, poprzez wykorzystanie badania molekularnego bioptatu. Wymienione techniki oceny zmian molekularnych opierają się na analizie mRNA poszczególnych genów, identyfikacji mutacji charakterystycznych dla raka tarczycy lub analizie mikroRNA. Autorka skonkludowała, że pomimo oczekiwanej poprawy

wyników diagnostyki, wprowadzenie wymienionych technik badawczych do codziennej praktyki limituje wysoka cena testów. Doktorantka, w oparciu o przedstawiony w rozdziale Wprowadzenie przegląd dostępnych metod diagnostycznych, uzasadniła konieczność dalszego optymalizowania diagnostyki przedoperacyjnej guzków tarczycy, czego istotnym elementem jest opracowanie polskiego klasyfikatora molekularnego w ramach wielośrodkowego projektu Narodowego Centrum Badań i Rozwoju wymienione badania „MILESTONE – Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego”. Lekarka Agnieszka Kotecka-Blicharz uczestniczyła w wymienionym projekcie badawczym w zakresie zbierania i analizy danych klinicznych pacjentów Oddziału w Gliwicach Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowego Instytutu Badawczego. Zaliczony do rozprawy doktorskiej cykl publikacji powstał w wyniku badań prowadzonych w ramach wyżej wymienionego projektu badawczego. Umieszczony na stronie 7 rozprawy doktorskiej schemat w sposób przejrzysty wskazuje zadania realizowane przez Doktorantkę (Ryc.1).

W rozdziale „Cele pracy” określono kierunki analizy zebranych danych, które w zamierzeniach Autorki polegały na wytypowaniu, zgodnie z zaplanowanymi kryteriami, próbek materiału biologicznego pozyskiwanego z guzków tarczycy, do stworzenia zbioru uczącego dla klasyfikatora molekularnego oraz identyfikację trudności w diagnostyce guzków tarczycy, które uzasadniałyby jego wdrożenie jako narzędzia diagnostycznego. Zasadniczym celem analizy było w grupie obejmującej kategorię rozpoznania cytologicznego III-V według systemu Bethesda: oszacowanie ryzyka złośliwości w guzku tarczycy w dostępnym materiale klinicznym; określenie w jakim stopniu dostępne w Polsce narzędzia diagnostyczne, w szczególności badanie usg, może wpłynąć na decyzje terapeutyczną w tej grupie; analiza efektywności decyzji klinicznych po rozpoznaniu cytopatologicznym III-V według system Bethesda w sytuacji braku dostępności testów molekularnych. Procedurę selekcji zmian ogniskowych do zbioru uczącego klasyfikatora molekularnego przedstawiono przejrzysto na Ryc. 2.

Wybór obszaru badań wydaje się interesujący i istotny z punktu widzenia zarówno poznawczego jak i klinicznego, szczególnie, że dotyczy problemu, z którym spotykamy się w endokrynologii stosunkowo często. Realizacja wskazanych przez Doktorantkę celów może być ważnym argumentem w zwiększeniu trafności diagnostycznej w rozpoznawaniu przedoperacyjnym potencjalnie złośliwych guzkowych zmian w tarczycy.

W rozdziale 3. przedstawiono dane bibliograficzne publikacji tworzących rozprawę doktorską.

W kolejnych trzech rozdziałach omówiono publikacje zaliczone do rozprawy doktorskiej.

Pierwsza część badań projektu, której wyniki opublikowano w czasopiśmie naukowym Polish Archives of Internal Medicine, stanowi analiza retrospektywna dokumentacji medycznej pacjentów, z wolem guzkowym, wymagających diagnostyki różnicowej i zakwalifikowanych do udziału w wymienionym we Wprowadzeniu projekcie NCBiR. W ramach tej części projektu badawczego wykonano biopsje aspiracyjne cienkoigłowe 1456 zmian ogniskowych tarczycy celem poddania pobranego materiału ocenie cytologicznej oraz molekularnej. Spośród pobranego materiału do analizy włączono 222 zmiany ogniskowe tarczycy u 222 pacjentów z niezdeterminowanym wynikiem cytopatologicznym, spełniającym kryteria kategorii III-V systemu Bethesda, potwierdzonym przez dwóch niezależnych patologów. Obraz ultrasonograficzny guzka sklasyfikowano zgodnie z EU-TIRADS. Ostateczne rozpoznanie charakteru guzka określono na podstawie badania histopatologicznego, wykonanego u 175 pacjentów. Bez weryfikacji histopatologicznej pozostało 47 zmian ogniskowych tarczycy. W publikacji przedstawiono w sposób wyczerpujący charakterystykę badanej grupy, rozkład subtypów histologicznych wśród operowanych guzków, rozległość wykonanego zabiegu, rozkład powikłań pooperacyjnych, czynniki wpływające na rozwoju pooperacyjnej niedoczynności tarczycy, charakterystykę pacjentów z guzkiem kategorii III systemu Bethesda oraz charakterystykę pacjentów w zależności od wyniku badania histopatologicznego oraz wyników monitorowania po wykonanej operacji. Szczególnie istotne są informacje dotyczące ryzyka złośliwości zmiany ogniskowej w zależności od kategorii systemu Bethesda oraz klasyfikacji zmian ultrasonograficznych EU-TIRADS zawarte w tabeli 8. Przedstawione dane określają częstość potwierdzonych histopatologicznych zmian złośliwych w kategoriach III, IV oraz V systemu Bethesda wynosząca odpowiednio 6,7%, 11,3% oraz 70,3%. W badanej grupie nie stwierdzono istotnych różnic w obliczonym ryzyku złośliwości w IV i V kategorii systemu Bethesda w zależności od obrazu usg. W zmianach kategorii Bethesda III obraz usg odpowiadający EU-TIRADS 3 wiązał się z niższym szacowanym ryzykiem złośliwości poniżej 5%, podczas gdy obraz odpowiadający EU-TIRADS 5 był związany z wyższym 18% ryzykiem złośliwości. Należy podkreślić, że publikacja została wyróżniona nagrodą II Towarzystwa Internistów Polskich.

Druga z zaliczonych do rozprawy doktorskiej publikacji ukazała się w czasopiśmie Endokrynologia Polska. W pracy badano 175 pacjentów z niezdeterminowanymi guzkami tarczycy, będących częścią grupy analizowanej w publikacji poprzedniej, spośród których wszyscy poddani byli leczeniu chirurgicznemu. Celem badania było określenie roli ultrasonograficznych cech ryzyka złośliwości guzków tarczycy oraz ustalenie stopnia w jakim te cechy mogą wspomóc szacowanie ryzyka onkologicznego, przez co wpłynąć na decyzje o dalszym postępowaniu. Ultrasonograficzne cechy ryzyka złośliwości oceniano zgodnie z zaleceniami Polskich Towarzystw Naukowych Diagnostyki i Leczenia Raka Tarczycy z roku 2018, z wyjątkiem oceny unaczynienia guzków tarczycy. Wykluczenie ostatniego kryterium podyktowane było niespójnością w tym zakresie

dostępnych opisów usg. Przeprowadzona analiza wykazała w badanej grupie niezdeterminowanych guzków tarczycy wysoką swoistość przy niskiej czułości. Rak pęcherzykowy tarczycy, często przedoperacyjnie zaliczany do tej kategorii, może prezentować obraz ultrasonograficzny bez znanych cech ryzyka złośliwości. Najwyższe prawdopodobieństwo złośliwości wykazano dla obecności mikrozwapnień.

Trzecia z prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej ma charakter poglądowy i została opublikowana w czasopiśmie *Gland Surgery* w roku 2020. W publikacji przedstawiono możliwości i perspektywy stosowania testów molekularnych w guzkach tarczycy w przypadku wyniku badania cytologicznego określanego jako niezdeterminowany, zgodnie z wiedzą dostępna w roku ukazania się pracy. W artykule naukowym omówiono charakterystykę dostępnych testów molekularnych. Autorzy pracy wskazali, że mimo dostępności testów komercyjnych w USA American Thyroid Society dopuszczają ich wykonanie w przypadku stwierdzenia cytologicznie kategorii Bethesda III i IV po konsultacji z pacjentem. Autorzy zwrócili uwagę, że zalecenia wykonywania testów molekularnych nie znalazły się w rekomendacjach europejskich towarzystw naukowych, a jedną z przyczyn są wysokie koszty ich wykonywania. Publikacja, mimo poglądowego charakteru, wiąże się tematycznie z pozostałymi pracami oryginalnymi, stanowiąc pewnego rodzaju uzupełnienie analizy aktualnych możliwości i ograniczeń diagnostyki niezdeterminowanych cytopatologicznie zmian guzkowych tarczycy.

W rozdziale „Podsumowanie”, umieszczonym po tekście stanowiącym dyskusję Doktorantka sformułowała wnioski końcowe rozprawy, w których stwierdziła, że pojedyncze ultrasonograficzne cechy ryzyka złośliwości w przypadku niezdeterminowanych cytologicznie guzków tarczycy wykazują wysoka swoistość przy niskiej czułości; jednoczesna analiza klinicznych i ultrasonograficznych czynników ryzyka złośliwości w przypadku wymienionych zmian, może być niewystarczająco precyzyjna; zastosowanie testów molekularnych, mimo potencjalnych korzyści, jest aktualnie limitowane kosztem ich wykonania, aczkolwiek wyniki przeprowadzonych badań wskazują potrzebę pilnej ich implementacji w populacji polskiej.

Kolejne rozdziały obejmują spis piśmiennictwa, streszczenie, listę publikacji Doktorantki nie będących przedmiotem dysertacji oraz załączniki, którymi są oryginały publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej i oświadczenia ich współautorów.

Uważam, że całość przedstawionego projektu badawczego, stanowiącego rozprawę doktorską, wykazuje spójność w zakresie doboru obszaru badań, jednorodności stosowanych kryteriów włączenia i wyłączenia pacjentów oraz kierunków oceny uzyskanych wyników. Przedstawione wyniki i wnioski są interesujące i powinny zdecydowanie skłaniać do kontynuowania tego kierunku badawczego z uwzględnieniem analizy przydatności testów molekularnych, pomimo

istniejących ograniczeń w ich włączeniu do rutynowej diagnostyki. Badania składające się na rozprawę doktorską charakteryzują się prawidłową metodyką, właściwym przedstawieniem wyników oraz merytoryczną dyskusją w oparciu o prawidłowo dobrane pozycje piśmiennictwa naukowego. Wnioski sformułowano prawidłowo w oparciu o adekwatną analizę statystyczną. Stwierdzone minimalne uchybienia formalne nie pomniejszają wartości pracy.

Oceniając działalność naukową Doktorantki, należy podkreślić Jej znaczącą aktywność i uczestnictwo w realizacji wielu projektów badawczych, nie będących przedmiotem rozprawy doktorskiej a koncentrujących się na tematyce nowotworów układu endokrynnego, czego dowodem jest 10 takich publikacji w renomowanych czasopismach naukowych (łączny IF 17,58), z których pięć dotyczy raka tarczycy.

Reasumując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska dowodzi opanowania przez Doktorantkę umiejętności właściwego wyboru obszaru badawczego, określenia celów głównych i dodatkowych prowadzonych badań oraz ustalenia i konsekwentnego stosowania kryteriów kwalifikacji pacjentów adekwatnych do obranych celów. Lekarka Agnieszka Kotecka-Blicharz wykazała się również znajomością metod statystycznych oraz zdolnością precyzowania wniosków. W rozdziale poświęconym dyskusji odniesiono się do współcześnie stosowanych w kraju i za granicą algorytmów diagnostyczno-terapeutycznych w przypadku wola guzkowego, z wykorzystaniem prawidłowo dobranego piśmiennictwa. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska wnosi istotne i oryginalne elementy w zakresie rozważań nad optymalizacją diagnostyki w środowisku naukowym i klinicznym zajmującym się nowotworami tarczycy. Autorka wykazała w populacji polskiej niskie ryzyko złośliwości w guzkach tarczycy kategorii III i IV systemu Bethesda (odpowiednio 6,7% i 11,3%) oraz zwróciła uwagę na możliwy brak cech ryzyka złośliwości w obrazie usg w przypadku raka pęcherzykowego stwierdzanego w tej grupie pacjentów.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Agnieszki Koteckiej-Blicharz spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Wnioskuje o wyróżnienie recenzowanej pracy.



Prof. dr hab. n. med. Filip Gołkowski