



dr hab. Małgorzata Wrzosek
Katedra i Zakład Biochemii i Farmakogenomiki
Wydział Farmaceutyczny

Recenzja

rozprawy doktorskiej pt. „Ocena przydatności oznaczenia wybranych markerów wydzielanych przez komórki śródbłonna naczyniowego oraz tkankę tłuszczową jako czynników prognostycznych w grupie pacjentek z pierwotnym rakiem piersi” wykonanej przez Panią mgr Katarzynę Kwiatkowską, pod kierunkiem Pani dr hab. Barbary Ciastek.

Niniejsza rozprawa doktorska podejmuje ważną z medycznego punktu widzenia kwestię dotyczącą markerów pierwotnego, jednostronnego raka piersi, będącego najczęściej diagnozowanym nowotworem u kobiet i jedną z głównych przyczyn zgonów kobiet na całym świecie. Choć wiadomo, że tkanka tłuszczowa stanowi największy narząd wydzielania wewnętrznego, który jest źródłem adipokin, w tym adiponektyny i leptyny, to nie w pełni poznany jest wpływ tych czynników oraz stosunku ich stężeń (LAR, stosunek leptyny do adiponektyny) na powstawanie przerzutów i czas przeżycia wolny od progresji w przypadku kobiet z rakiem piersi. Ponadto u chorych na nowotwory czynniki wydzielane przez komórki śródbłonna naczyniowego poprzez promowanie zaburzeń w układzie fibrynolitycznym czy utrzymanie tzw. mikrośrodowiska nowotworu mogą wpływać na rozwój przerzutów i gorszą odpowiedź na leczenie. Przedstawiona do recenzji praca wpisuje się w ten obszar badań. Praca koncentruje się na udokumentowaniu wpływu stężenia tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) i inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1) oraz ich stosunków na cechy kliniczne pacjentek z rakiem piersi oraz rokowanie i ich czas przeżycia. Oceniono także jak stężenia markerów aktywacji śródbłonna (tj. sP-selektyny, sE-selektyny i vWF) korelują ze średnicą guza, stopniem złośliwości histologicznej i zajęciem węzłów chłonnych u badanych pacjentek. Wybór tematu i problematyki badawczej uważam za uzasadniony i niezwykle ważny z punktu widzenia poznawczego jak i diagnostycznego. Mimo znacznego rozwoju medycyny ciągle istnieje potrzeba identyfikacji biomarkerów umożliwiających wczesne wykrycie choroby oraz określających prawdopodobieństwo wystąpienia przerzutów.

Wyniki badań eksperymentalnym będących podstawą rozprawy doktorskiej zostały przedstawione w trzech pracach eksperymentalnych, których sumaryczny współczynnik oddziaływania (Impact Factor- IF) wynosi 10,475 oraz 240 punktów

Prodziekan
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki

MNiSW. W dwóch pracach Pani mgr Katarzyna Kwiatkowska była pierwszym autorem natomiast w pracy trzeciej była drugim autorem.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi zbiór wymienionych publikacji, który został poprzedzony Wstępem, stanowiącym szerokie opracowanie naukowe, oparte o starannie dobrane piśmiennictwo liczące 162 pozycje. We Wstępie Autorka szczegółowo opisała takie zagadnienia jak nowotwór piersi i jego leczenie oraz rolę tkanki tłuszczowej i śródbłonna naczyniowego w procesie nowotworzenia, co było niezbędne dla przedstawienia głównych założeń i celów pracy. Poszczególne części pracy zostały zilustrowane 8 tabelami i 20 rycinami, które są jasno opisane i starannie przygotowane. Należy pokreślić, że gruntowny przegląd wiedzy przedstawiony we Wstępie świadczy o znacznej wiedzy autorki na tematy bezpośrednio związane z założeniem naukowym, które postawiła sobie za cel rozprawy doktorskiej. Autorka zamieściła też graficzne podsumowanie wstępu, które dowodzi o umiejętności wykorzystania programów graficznych w pracy naukowej, a w szczególności do syntetycznej prezentacji założeń naukowych.

Cel pracy i sposób jego realizacji został dobrze sformułowany. W rozdziale Materiały i Metody dokonano bardzo szczegółowego przedstawienia części doświadczalnej w postaci schematu blokowego metodyki badań. Kryteria doboru grupy badanej zostały precyzyjnie określone. Jest to ważny element, który pozwala na prześledzenie doboru pacjentek do badań, a także sposobu gromadzenia i weryfikacji danych po 33 i 68,5 miesiącach obserwacji. Na uwagę zasługuje fakt, iż grupa badana w 1 publikacji jest homogenna, a sposób prowadzenia kryterium wyłączenia polegający na wyeliminowaniu pacjentek z otyłością, guzem o rozmiarze większym niż 5 cm czy stosujących terapię hormonalną, pozwala na wyeliminowanie czynników, które w istotny sposób mogły modulować oceniane zależności. Zastosowane do obliczeń danych metody analizy statystycznej stanowią gwarancję rzetelności uzyskanych wyników. Ponadto Autorka deklaruje swój znaczny wkład w ich wykonywanie. Należy więc podkreślić trafność doboru testów statystycznych i umiejętne wykorzystanie wybranych metod, w tym regresji Coxa i regresji liniowej, do prezentacji uzyskanych wyników badań i sprecyzowania ich rezultatów.

Autorka przekonująco zaprezentowała cykl trzech prac oryginalnych. Każdej z prac dotyczyło wprowadzenie, które zawierało dokładne omówienie stanu wiedzy, przedstawienie założeń i hipotez badawczych, opis grupy badanej, cel, wyniki oraz ich omówienie. Rozdziały te stanowiły istotę pracy doktorskiej, pozwoliły na wdrożenie czytającego do tematyki publikacji, stosowanych w nich metod statystycznych i kluczowych wyników badań w nich opisanych.

W kolejnej części przedstawione zostały wnioski płynące z opublikowanych prac oraz rozdział Podsumowanie i ograniczenia badania, które stanowiły integralną składową prezentowanej rozprawy doktorskiej. Załączone zostało także streszczenie w języku polskim i angielskim oraz spis wykorzystanego piśmiennictwa, który jest bardzo aktualny i obszerny. Ostatni rozdział pracy stanowią Oświadczenia i Zgoda Komisji Bioetycznej. Autorka zamieściła oświadczenia dotyczące wszystkich trzech

prezentowanych w cyklu publikacji i wszystkich współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w ich powstanie. Wskazują one na znaczny wkład mgr Katarzyny Kwiatkowskiej w ich realizację. Wszystko to dowodzi, że przedstawiona rozprawa tworzy spójną całość, pozwalającą określić, że autorka niniejszej rozprawy doktorskiej zdobyła wiedzę, umiejętności i kompetencje, które zaowocowały uzyskaniem danych naukowych i ich prezentacją w czasopiśmie z tzw. listy filadelfijskiej czasopiśm, poprzedzoną szczegółową oceną międzynarodowego zespołu ekspertów.

Analiza uzyskanych w pracy doktorskiej wyników wykazała, wpływ markerów aktywacji śródbłonna, sP-selektyny oraz sE-selektyny na średnicę guza, stopień złośliwości histologicznej oraz zajęcie węzłów chłonnych u badanych pacjentek. Po leczeniu uzupełniającym u badanych pacjentek stężenie leptyny i adiponektyny oraz markerów śródbłonna naczyniowego (t-PA, PAI-1, vWF)) wzrosło. Wykazano większą częstość nawrotów choroby u pacjentek z wysokim stężeniem leptyny po leczeniu a wartość LAR powiązano ze zwiększonym prawdopodobieństwem nawrotów i śmiertelności w badanej grupie. Ponadto udowodniono, że stężenie sP-selektyny przed leczeniem oraz potencjał antyfibrynolityczny (wyrażony, jako stosunek PAI-1/t-PA) niższy niż 7,5 mogą mieć wartość jako wskaźniki prognostyczne i przyczyniać się do przewidywania wyniku terapii u pacjentek z wczesnym stadium raka piersi.

Warstwę edycyjną rozprawy uważam za poprawną. Pojawiają się nieliczne błędy wynikające z zastosowania np. znaków diakrytycznych. Uwaga ta dotyczy przede wszystkim wstępu. Str. 13 występujące - zamiast występującą; str. 33 - „powiązane z procesem nowotworem” zamiast procesem nowotworowym; str. 45 - szyk w opisie selektyny E, czy str. 47 - „która rekrutują monocyty” - zamiast - która rekrutuje monocyty.

W treści głównej, jedynie w kilku miejscach mam uwagi, które przedstawiam poniżej:

1. We wstępie, str. 12, Autorka podaje procentowość zachorowań jako 99%, wymaga to rozszerzenia i wyjaśnienia definicji „crude rate”.
2. We wstępie, str. 28 - „aktywowaną przez dimeryzację HER3” powinno być „aktywowaną przez dimeryzację z HER3” bowiem tworzony jest dimer HER2-HER3, czyli para podjednostki HER2 z HER3. Dimer HER3 nie aktywuje monomeru HER2 jak wynikałoby z opisu, aktywuje go związanie z jego ligandem.
3. Podobnie trastuzumab nie „wiąże się z domeną receptora kinazy tyrozynowej w HER2” , która jest domeną wewnątrzkomórkową - trastuzumab wiąże się z domeną zewnątrzkomórkową HER2. Jako przeciwciało monoklonalne blokuje receptor HER2 od „góry”. Tylko małowcząsteczkowy lek - wnika „do środka” - taki jak np. gefitynib czy lapatynib i może wiązać się i być inhibitorem kinazy tyrozynowej receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu.
4. We wstępie, str. 38 - w przypadku stwierdzenia „U osób otyłych stężenie adiponektyny jest odwrotnie skorelowane z ilością tkanki tłuszczowej” lepiej

zacytować choćby dwie prace oryginalne niż jedną pogładową. Proszę zaproponować takie prace.

5. We Wnioskach dotyczących pracy trzeciej, str. 134 i 108, Autorka stwierdziła, że zastosowane leczenie zwiększa stężenie markerów endotelialnych. Jednak zarówno stężenie sE-selektyny jak i stężenie sP-selektyny jest znacznie wyższe także u pacjentów, którzy nie przyjmowały chemioterapii. Proszę poddać dyskusji możliwą przyczyną tego wzrostu i odnieść się do wyników innych autorów.
6. W pracy trzeciej badany był czynnik von Willebranda, vWF (von Willebrand factor) biorący udział w procesie jej krzepnięcia. Poproszę odnieść się do wyników uzyskanych w aspekcie jego stężenia w poszczególnych podgrupach pacjentek przed i po leczeniu i zainicjować dyskusję z wynikami innych autorów. Proszę odnieść się do metodyki wykonania oznaczeń stężenia vWF.
7. Autorka wykazała się umiejętnością graficznej prezentacji różnych elementów pracy, należy jednak podać nazwy wykorzystanych programów graficznych lub strony internetowe zawierające darmowe zbiory materiałów i obrazów, z których korzystała do przygotowania rycin w pracy doktorskiej.

Wymienione uwagi nie wpływają w sposób istotny na końcowy odbiór pracy, która stanowi wartościową, uporządkowaną i estetyczną całość.

Podsumowując, należy podkreślić trafność podjętej tematyki badawczej i znaczenie uzyskanych wyników zarówno dla celów poznawczych, jak i dla stymulowania dalszych badań w zakresie znaczenia zaburzeń procesu fibrynolizy i czynności wydzielniczej adipocytów, co może skutkować identyfikacją predykcyjnych i prognostycznych markerów wczesnego stadium raka piersi. Analiza uzyskanych wyników wskazuje, iż przedstawiona do recenzji praca dostarcza nowych danych na temat możliwości i celowości wykorzystania przedstawionych markerów w praktyce klinicznej w leczeniu kobiet z rakiem piersi.

Biorąc pod uwagę walory poznawcze i metodologiczne rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Kwiatkowskiej pt. „Ocena przydatności oznaczenia wybranych markerów wydzielanych przez komórki śródbłonna naczyniowego oraz tkankę tłuszczową jako czynników prognostycznych w grupie pacjentek z pierwotnym rakiem piersi”, stwierdzam, że spełnia ona wszystkie wymagania określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 r., poz. 574).

Wobec powyższego przedkładam Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy wniosek o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Kwiatkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie składam wniosek o wyróżnienie rozprawy. Podstawą rozprawy jest cykl trzech prac opublikowanych w języku angielskim w różnych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Łączny IF cyklu publikacji to 10,475 oraz 240 punktów MNiSW.

Należy pokreślić, że przedłożona rozprawa nie opiera się tylko na przedstawieniu cyklu publikacji, ale stanowi dobrze zaplanowane i przeprowadzone badanie, oparte na rzetelnej analizie piśmiennictwa, wnoszące znaczący wkład do współczesnej wiedzy na temat przydatności oznaczania markerów wydzielanych przez komórki śródbłonna naczyniowego i tkankę tłuszczową w grupie kobiet z pierwotnym rakiem piersi.

Warszawa, 12.08.2024 r.



dr hab. Małgorzata Wrzosek