Dr hab. n. med. Beata Kotowicz
Pracownia Markerów Nowotworowych
Zakładu Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej
Centrum Onkologii Instytutu
w Warszawie

Warszawa, 05.01.2019

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lek. med. Przemysława Chorąży

pt. „Przydatność oznaczania metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9)), ich tkankowych inhibitorów (TIMP-1, TIMP-2) oraz VEGF w diagnostyce i monitorowaniu leczenia operacyjnego raka piersi."

pod kierunkiem dr hab. n. med. Sławomira Ławickiego

Rak piersi to najczęściej występujący u kobiet nowotwór złośliwy z tendencją do wzrostu zachorowań, również przed menopauzą. Wczesne wykrywanie tego nowotworu jest możliwe nie tylko dzięki prowadzonym badaniom przesiewowym, ale przede wszystkim dostępności do zaawansowanych technik obrazowych stosowanych również w ocenie skuteczności leczenia. Problemem pozostaje jednak ogromna zmienność komórek nowotworowych i wciąż nieznana ich biologia. Obecnie fundamentalną rolę predykcyjno-prognostyczną odgrywają markery tkankowe. Pomimo intensywnych, wieloośrodkowych badań szerokiego panelu surowiczych biomarkerów, jak dotychczas, żaden nie spełnił kryteriów stawianych standardowym

markerom nowotworowym. Standardowy marker dla raka piersi CA 15.3 ze względu na niską czułość okazał się nieprzydatny w praktyce klinicznej, przez co nie jest rekomendowany przez towarzystwa naukowe. W ostatnich latach, dzięki postępom w nauce poznano nowe czynniki predykcyjne i prognostyczne, np. HER2 czy Ki67, które częściowo charakteryzując biologię komórek nowotworowych umożliwiły wprowadzenie do praktyki klinicznej efektywnych schematów leczenia, w tym dla określonych chorych terapię celowaną. Nowe strategie leczenia, jakkolwiek wydłużyły w sposób znaczący czas wolny od choroby, to jednak wyniki leczenia u części chorych są wciąż niezadawalające. Stąd konieczne jest poszukiwanie nowych czynników, w tym biomarkerów, które mogą być przydatne w diagnostyce i monitorowaniu leczenia raka piersi. Szczególnie interesujące są markery, których zmiany stężeń w surowicy krwi pozwolą na ocenę radykalności leczenia operacyjnego, czy też skuteczności leczenia uzupełniającego tych chorych.

Autor przedstawionej do recenzji rozprawy, na podstawie przeglądu piśmiennictwa ostatnich lat podjął próbę oceny użyteczności wybranych metaloproteinaz (MMP-2 i MMP-9), ich tkankowych inhibitorów (TIMP-1, TIMP-2) oraz cytokiny proangiogennej VEGF oznaczanych w osoczu chorych na raka piersi we wczesnych stopniach zaawansowania klinicznego. Doktorant oceniał przydatność powyższych parametrów w monitorowaniu leczenia i wykryciu wznowy raka piersi. Praca liczy 112 stron i składa się z 6 rozdziałów: wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja i wnioski. Ponadto dołączono spis treści, wykaz używanych skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz piśmiennictwa. Układ pracy jest zgodny z wymaganiami dotyczącymi rozpraw doktorskich.

We wstępie liczącym 40 stron Doktorant korzystając z licznych pozycji piśmiennictwa omawia między innymi wpływ różnorodnych czynników na etiopatogenezę raka piersi, podział histopatologiczny zmian nowotworowych i częstość ich występowania. Dokładnie przedstawia

obowiązujący system oceny klinicznego zaawansowania raka piersi tj. klasyfikację TNM. W części dotyczącej diagnostyki obrazowej, która ma kluczowe znaczenie w wykrywaniu raka piersi, prezentuje obrazy USG i mammograficzne zmian o różnym zaawansowaniu (Ryciny 4-8). Na uwagę zasługuje fakt, że są to zbiory własne autora. Następnie omawia diagnostykę laboratoryjną raka piersi, w tym szczególnie parametry, które są tematem rozprawy tj. cytokiny, metaloproteinazy i ich inhibitory w kontekście możliwości wykorzystania ich jako markery nowotworowe u chorych na raka piersi. Na stronie 35 autor opisuje wybrane markery stosowane w rutynowej praktyce klinicznej tj.: CA 15.3, CYFRĘ 21.1, TPS i CEA. Jak wiadomo marker CA 15.3 jest dedykowany dla raka piersi, jednak we wczesnych stopniach zaawansowania jego czułość jest stosunkowo niska, dlatego nie jest zalecany przez towarzystwa naukowe. Autor słusznie stwierdza, że oznaczanie CA 15.3 jest przydatne, podobnie jak innych markerów, szczególnie w monitorowaniu leczenia chorych. Moim zdaniem Doktorant powinien wyraźnie podkreślić, że markery nowotworowe mają praktyczne zastosowanie w ocenie odpowiedzi na leczenie u tych chorych, u których przed jego rozpoczęciem ich stężenia są podwyższone. Na stronie 38 autor używa sformułowania „ocena rokowania leczenia procesu nowotworowego", w mojej opinii właściwe jest „ocena skuteczności leczenia, czy też odpowiedzi na leczenie" (rokowanie, prognozowanie dotyczą przewidywania przebiegu choroby).

Celem badań prezentowanej rozprawy doktorskiej była ocena stężeń: metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9), ich tkankowych inhibitorów (TIMP-1, TIMP-2) i VEGF, oraz ich użyteczności diagnostycznej a także przydatności w monitorowaniu leczenia uzupełniającego chorych na raka piersi. W tym miejscu chcę podkreślić duży wkład pracy Doktoranta, szczególnie w część badawczą pracy, ponieważ prowadził swoje badania ponad dwa lata, oceniając stężenia wybranych parametrów w kilku punktach czasowych tj. :przed

rozpoczęciem leczenia, po zabiegu operacyjnym, po zakończeniu leczenia uzupełniającego, a także w trakcie dalszej obserwacji; po roku i dwóch latach.

W rozdziale „Materiał i metody" Doktorant przedstawia charakterystykę grupy badanej, uwzględniając stopień zaawansowania (I-II stopień wg. TNM) i grup kontrolnych oraz sposób kwalifikacji do badań. Wszystkie dane zebrane zostały w tabeli 7, jednak w tekście na str. 42 omyłkowo odnosi je do tabeli 4. Jak wynika z tabeli 7 w trakcie obserwacji zmniejszały się liczebności grup badanych, o czym autor nie wspomina i nie wyjaśnia. Następnie krótko omawia sposób postępowania terapeutycznego słusznie podkreślając, że oprócz stopnia zaawansowania klinicznego raka piersi, również status receptorów ER, PR, czy też HER2 ma kluczowe znaczenia w wyborze metody leczenia. Moim zdaniem interesujący jest stan receptorów w tej grupie badanej (czego zabrakło w opisie grupy) chociażby dlatego, że rokowanie chorych zależy od ich obecności, czy też braku (chore z potrójnie ujemnym rakiem piersi gorzej rokują). Autor tylko w jednym zdaniu nadmienia, że algorytmy leczenia chorych w I i II zaawansowania są różne. Następnie szczegółowo omawia metodykę oznaczeń wybranych biomarkerów, charakteryzuje również wszystkie parametry dotyczące oceny przydatności diagnostycznej testu oraz stosowane metody statystyczne.

W rozdziale Wyniki liczącym 34 strony, Doktorant w pierwszym etapie dokonał oceny stężeń wybranych biomarkerów w całej grupie chorych, w tym ze zmianami łagodnymi, przed i po operacji. Następnie analizował ich stężenia osobno w I i II stopniu zaawansowania, w okresie okołooperacyjnym i w monitorowaniu leczenia uzupełniającego. Rozkład stężeń, dynamikę zmian oraz dane dotyczące wykazanych różnic statystycznych Doktorant przedstawił w formie trzech obszernych tabel i dwóch rycin. W tej części pracy pojawia się kilka błędów. Na stronie 51 Autor opisując różnice w stężeniach VEGF i MMP-9 oznaczanych u chorych przed operacją vs po operacji napisał jakoby ich stężenia obniżyły się w okresie

przedoperacyjnym, co oczywiście nie potwierdzają dane w tabeli 11. Podobny błąd stylistyczny, jednak zmieniający sens zdania, pojawia się na stronie 53. Na stronie 54 natomiast, opisując istotne różnice w stężeniach po rocznej obserwacji vs po operacji, omyłkowo wskazano okres przedoperacyjny. W legendach tabel 12 i 13 nie w pełni wyjaśniono index 5. W kolejnym etapie pracy badawczej Autor rozprawy wyznaczył punkty odcięcia dla badanych parametrów i oceniał ich przydatność diagnostyczną, również w oparciu o analizę krzywych ROC, wykazując najwyższą czułość diagnostyczną dla cytokiny proangiogennej VEGF i jej istotne zwiększenie w oznaczaniu komplementarnym z CA 15.3 , zarówno w I jak i w II stopniu zaawansowania choroby. Wyniki dotyczące tego etapu pracy Doktorant zaprezentował w czterech tabelach i aż szesnastu rycinach. W końcowej części Autor rozprawy oceniał przydatność badanych parametrów w wykrywaniu wznowy raka piersi, wykazując najwyższą zdolność do rozpoznawania wznowy choroby, jak i prawdopodobieństwo jej wykrycia na podstawie dodatniego wyniku testu dla VEGF. W mojej opinii powyższa analiza jest bardzo interesująca, jednakże z uwagi na niski odsetek wznów w badanej grupie chorych na raka piersi we wczesnych stopniach zaawansowania i czas obserwacji po leczeniu, wyniki te wymagają potwierdzenia, co może być tematem ciekawej publikacji za kilka lat.

W rozdziale Dyskusja Doktorant w oparciu o piśmiennictwo ściśle związane z tematem rozprawy, poprowadził interesującą dyskusję analizując wyniki własne na tle doniesień innych autorów, a wyjaśniając przyczyny uzyskania sprzecznych rezultatów wykazał się bardzo dobrym warsztatem naukowym. Na koniec dysertacji, realizując założony cel badań, Doktorant sformułował 5 wniosków. Wykazał znamiennie wyższe stężenia VEGF, MMP-9 i TIMP-2 w osoczu chorych na raka piersi, w porównaniu z grupami kontrolnymi, mogące wskazywać na ich wydzielanie przez komórki nowotworowe. Interesującym było stwierdzenie, że VEGF i MMP-9 okazały się przydatne w ocenie radykalności zabiegu operacyjnego, a żaden

z badanych parametrów nie był istotny w ocenie skuteczności leczenia uzupełniającego chorych na raka piersi. Doktorant stwierdził, że spośród badanych parametrów najwyższą przydatność diagnostyczną wykazywały stężenia VEGF, co przemawia za możliwością jego oznaczania komplementarnie z CA 15.3, jako dodatkowego biomarkera przydatnego w diagnostyce raka piersi. Rozprawa doktorska napisana jest starannie z rozbudowaną częścią badawczą, co zwiększa jej wartość i przemawia za rzetelnością wyciągniętych wniosków. Na uwagę zasługuje szeroki wybór i właściwe wykorzystanie piśmiennictwa (125 pozycji), w większości z ostatnich 10. lat. Drobne błędy i pomyłki redakcyjne nie ujmują wartości pracy.

Podsumowując stwierdzam, że podjęte w rozprawie doktorskiej zagadnienia Doktorant w pełni zrealizował. Przedstawione wyniki i wyciągnięte na ich podstawie interesujące wnioski świadczą o dobrym przygotowaniu Autora do prowadzenia prac badawczych, a Jego dysertacja spełnia wszystkie wymagania 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 późn. zm).

W związku z powyższym praca lek. med. Przemysława Chorąży pt. „Przydatność oznaczania metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9)), ich tkankowych inhibitorów (TIMP-1, TIMP-2) oraz VEGF w diagnostyce i monitorowaniu leczenia operacyjnego raka piersi." jest podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk medycznych. Przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie Pana Przemysława Chorąży do dalszych części przewodu doktorskiego.

Beata Kotowicz