



Dr hab. n. zdr. Aleksandra Gaworska–Krzemińska, prof. uczelni
p.o. Dyrektor Instytutu Pielęgniarstwa i Położnictwa
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk, 18 sierpnia 2023 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej w dziedzinie nauk medycznych
i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki o zdrowiu

mgr Marty Karoliny Rupińskiej

pt.: „WARTOŚĆ DIAGNOSTYCZNA I PROGNOSTYCZNA SUROWICZYCH STEŻEŃ YKL-40 W RAKU ENDOMETRIUM”

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Sławomir Terlikowski

Wysoka Rado Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku,
częstość występowania i śmiertelność kobiet z powodu raka endometrium (EC), w ostatnich latach bardzo wzrosła na całym świecie. Współczynniki zachorowalności są szczególnie wysokie w krajach rozwiniętych i rozwijających się. Mimo rozwoju wiedzy i technologii medycznych diagnostyka EC nadal, głównie opiera się na stwierdzeniu charakterystycznych objawów klinicznych i potwierdzeniu raka w histopatologicznym badaniu pobranych tkanek, zazwyczaj podczas leczenia operacyjnego. Nie stosuje się żadnych badań przesiewowych w kierunku wczesnego wykrycia EC. Mimo, iż w diagnostyce

i prognozowaniu przebiegu choroby wykorzystuje się pomiary stężenia CA125 w surowicy krwi, to jednak nie ma zdefiniowanej wartości odcięcia dla tego markera. Nie jest on też dla EC ani swoisty, ani specyficzny. Stąd, trwają poszukiwania nowych białek obecnych w płynach ustrojowych chorych na EC, które mogłyby być wykorzystane jako markery w celu poprawy wczesnej diagnostyki i ograniczenia rosnącej śmiertelności. W ostatnich latach badacze sugerują, iż takim markerem może być YKL-40, białko sekrecyjne, wydzielane m.in. przez komórki nowotworowe oraz makrofagi towarzyszące rozrostom nowotworowym.

Tematyka badawcza, podjęta przez Doktorantkę wpisuje się w ogromną potrzebę poszukiwania markerów diagnostycznych i prognozujących dla EC. Jest to tym bardziej ważne, iż obserwuje się stały wzrost zachorowań, a szacunkowe dane przewidują, że za około 20 lat, zachorowalność na EC wzrośnie o 50% na całym świecie.

Biorąc pod uwagę powyższe, wysoko oceniam wybór tematyki i założone cele badawcze przez Doktorantkę, wpisały się one w bardzo aktualną problematykę potrzeby oceny wartości diagnostycznych YKL-40.

Układ ocenianej rozprawy liczy 57 stron, zawiera wszystkie niezbędne elementy charakterystyczne dla prac w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Praca została podzielona na dziewięć części zawierających odpowiednie proporcje w opisywanych treściach.

Autorka przedstawiła teoretyczne podstawy omawianych zagadnień we *Wstępie* dzieląc go na dziewięć obszarów. Opisała syntetycznie, bez zbędnej teorii, najważniejsze aspekty związane z rakiem endometrium, w tym epidemiologię, etiologię, objawy, leczenie oraz dotychczasową wiedzę na temat znaczenia YKL-40 w diagnostyce i prognozowaniu przebiegu choroby, czym bardzo dobrze uzasadniła słuszność podjętej tematyki badawczej. W części teoretycznej zacytowała 81 źródeł, w tym najnowsze publikacje, często oparte o przeglądy systematyczne badań międzynarodowych. Jedynie ostatni akapit nie został potwierdzony wybranym źródłem piśmiennictwa, co należy uzupełnić.

Głównym *celem* przedstawionej dysertacji była ocena wartości diagnostycznej i prognostycznej YKL-40 jako biomarkera dla EC. Cele szczegółowe objęły:

1. Ocena wartości diagnostycznej YKL-40 przeprowadzona w grupie kobiet chorych i zdrowych.
2. Ocena przedoperacyjnych surowiczych stężeń YKL-40 w odniesieniu do czynników prognostycznych EC, w tym:
 - a) stopnia zróżnicowania histologicznego,

- b) stopnia zaawansowania klinicznego,
 - c) głębokości nacieku myometrium,
 - d) obecności przerzutów do węzłów chłonnych miednicznych i okołoaortalnych.
3. Ocena przedoperacyjnych surowiczych stężeń YKL-40 w odniesieniu do czasu do nawrotu choroby (DFS) oraz całkowitego czasu przeżycia (OS).

Mimo, iż Autorka nie przełożyła celów badawczych na problemy i hipotezy badawcze w tej części pracy, to w przedstawionych dalej wynikach badań swobodnie je odnajdujemy wraz z wybranymi zmiennymi.

W rozdziale **Material i Metoda** Doktorantka opisała metodykę postępowania badawczego. Do badań włączyła 67 pacjentek z EC leczonych w latach 2016-2020 w Oddziale Ginekologiczno-Położniczym SPZOZ Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego im. J. Śniadeckiego w Białymstoku oraz 55 zdrowych kobiet zgłaszających się na badania okresowe. Nowotwory klasyfikowano zgodnie z kryteriami histologicznymi podanymi przez WHO. Stopień zaawansowania klinicznego określano za pomocą kryteriów podanych przez FIGO. Zakres leczenia operacyjnego obejmował co najmniej całkowitą histerektomię i obustronną salpingooforektomię. W zaawansowanych stadiach wykonywano limfadenektomię oraz zabiegi cytoredukcyjne i leczenie uzupełniające (chemioterapia i/lub radioterapia). Kobiety włączono do badania po wyjaśnieniu procedury badawczej i po wyrażeniu przez nie pisemnej zgody. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku Nr. R-I-002/286/2017.

Wyjaśnienia wymaga termin rozpoczęcia badania, gdyż pozytywna opinia Komisji Bioetycznej została wydana w 2017 roku, natomiast Doktorantka napisała, że objęła badaniem pacjentki od 2016 roku, a ich włączenie odbyło się, jak napisała „*po wyjaśnieniu procedury badawczej i po wyrażeniu przez nie pisemnej zgody*”.

Dobór próby był celowany. Analizowano przedoperacyjne surowicze stężenia YKL-40 w odniesieniu do stopni zróżnicowania histologicznego i zaawansowania klinicznego, głębokości nacieku myometrium, obecności przerzutów do węzłów chłonnych, czasu do nawrotu choroby (DFS) oraz całkowitego czasu przeżycia (OS). Do oznaczenia stężeń badanego białka wykorzystano metodę immunoenzymatyczną ELISA. Surowice do oznaczania stężeń YKL-40 uzyskano z krwi obwodowej pozyskiwanej z żyły łokciowej do jałowych probówek typu *Vacutainer*® (Becton Dickinson, USA) na skrzep. Zastosowano zestaw detekcyjny Quantikine R&D Systems, Inc. (Minneapolis, USA) Human Chitinase 3-like 1 (YKL-40) DuoSet ELISA (DY2599) o zakresie pomiaru 31,2 - 2000 pg/ml. Do

miaru absorpcji użyto czytnika do mikropłytek Labsystems Multiskan Spektrum Microplate Readers (Thermo Scientific, USA).

Doktorantka szczegółowo opisała technikę badawczą przedstawiając również procedurę oznaczeń. Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej przy użyciu oprogramowania Statistica w wersji 13.3PL (StatSoft, Inc., StatSoft Polska Sp. z o.o., Polska). Wartość $p < 0,05$ uznano za istotne statystycznie. Wszystkie procedury badawcze zostały szczegółowo opisane przez Autorkę, dając pełen obraz analizowanych danych i zmiennych. W tej części brakuje jedynie opisu wykonania, uwzględnionych w wynikach pracy badań histopatologicznych.

Wyniki badań przedstawiono w ujęciu tabelarycznym oraz w formie opisowej. Stężenia YKL-40 w surowicy krwi oraz wyniki badań histopatologicznych zostały zilustrowane 6 tabelami i 4 rycinami. Autorka opisała charakterystykę respondentów różnicując ich wiek: grupę badaną stanowiły kobiety chore na EC, w średnim wieku 58,9 lat (zakres: 55-68 lat), natomiast grupę kontrolną zdrowe kobiety, w średnim wieku 56,5 lat (zakres: 49-63 lat).

Analiza wyników badań histopatologicznych wykazała, iż spośród 67 chorych z EC stanowiących grupę badaną stwierdzono 51 (76,2%) gruczolakoraków endometrioidalnych, 7 raków jasnokomórkowych (10,4%), 5 surowicznych (7,5%) oraz 4 niezróżnicowane (5,9%).

Następnie przedstawiono wyniki klasyfikacji zaawansowania klinicznego, wyniki badań histopatologicznych, naciekania mięśnia macicy, przerzutów do węzłów chłonnych i przedoperacyjne surowicze stężenia YKL-40 u badanych pacjentek. Potencjalną przydatność diagnostyczną stężeń YKL-40 oceniano za pomocą analizy krzywej ROC u kobiet chorych i zdrowych. AUC wynoszące 0,814 (95% CI: 0,721-0,880; $p < 0,001$) potwierdziło jego przydatność do rozróżnienia między chorymi na EC a grupą kontrolną. W punkcie odcięcia 42,8 ng/ml czułość i swoistość diagnostyczna dla poszczególnych grup wyniosła odpowiednio: 77,55% i 80,85%. Wyniki te w całości odpowiadają założonym celom badawczym.

Wyniki badań własnych w odniesieniu do wyników innych badaczy z kraju i z zagranicy Doktorantka omówiła w rozdziale piątym na 7 stronach **Dyskusji**. Przeprowadzona dyskusja świadczy o umiejętności krytycznego myślenia na tle osiągnięć innych badaczy. Autorka bardzo dobrze interpretuje zebrany materiał i poprawnie wyciąga wnioski. Mimo, iż przeprowadzona przez Doktorantkę analiza wielowariantowa nie zidentyfikowała niezależnych czynników prognostycznych, to stężenie YKL-40 miało istotny wpływ na OS ($\chi^2=6,178$). Jego podwyższone stężenie obserwowano u 74% chorych, które zmarły, w porównaniu do 46% żyjących ($p=0,043$). Natomiast w analizie log-rank

stopień zaawansowania wg FIGO ($p=0,004$), stopień zróżnicowania histologicznego ($p=0,021$), głębokość nacieku myometrium ($p=0,006$), zajęcie węzłów chłonnych ($p=0,007$) i stężenia YKL-40 ($p=0,043$) wykazały istotną wartość prognostyczną. Sposób analizowania uzyskanych wyników i bardzo duża ostrożność w ich interpretacji świadczy o dojrzałości Autorki i rozumieniu ograniczeń wyników badań.

Doktorantka sformułowała 3 **wnioski**, które są odpowiedzią na postawione cele badawcze, stanowią podsumowanie najważniejszych osiągnięć pracy tj.:

1. YKL-40 może być użytecznym markerem diagnostycznym raka endometrium.
2. Przedoperacyjne stężenia YKL-40 nie wykazują korelacji z badanymi czynnikami klinicznopatologicznymi.
3. Podwyższone poziomy YKL-40 u pacjentek z rakiem endometrium mogą mieć implikacje prognostyczne co do wznowy procesu nowotworowego oraz czasu przeżycia chorych

Całość pracy uzupełnia bardzo dobrze dobrane piśmiennictwo polskie i zagraniczne zawierające 95 pozycji. Pracę kończy streszczenie w j. polskim i angielskim oraz wykaz tabel i rycin.

Podsumowując, uważam, że Doktorantka wykazała się umiejętnością projektowania i prowadzenia pracy badawczej wybierając bardzo ważny obszar, jakim jest poszukiwanie markerów diagnostycznych i prognostycznych dla raka endometrium. Przygotowana dysertacja świadczy o umiejętności syntetycznego opracowania materiału i znajomości piśmiennictwa dotyczącego omawianego zagadnienia. Metodyka badań jest logiczna, założone cele zostały zweryfikowane, dyskusja i wnioski końcowe odpowiadają na założenia pracy. Doktorantka wykazała się rzeczowym podejściem do ograniczeń i interpretacji uzyskanych wyników badań.

Uzyskane wyniki badań stanowią oryginalne rozwiązanie i mają wartość praktyczną. Pomimo, że w badaniach własnych Doktorantka nie wykazała zależności istotnych statystycznie pomiędzy stężeniami YKL-40 a stopniem zaawansowania klinicznego, stopniem zróżnicowania histologicznego i przerzutami do węzłów chłonnych, to jednak dotychczasowe wyniki innych badaczy i jej własne popierają tezę o wysokiej przydatności YKL-40 w diagnozowaniu i monitorowaniu chorych na EC, co wskazuje na potrzebę dalszych badań.

Mając na uwadze powyższe, stwierdzam, iż przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Marty Karoliny Rupińskiej pt.: „**Wartość diagnostyczna i prognostyczna surowiczych stężeń YKL-40 w raku endometrium**”, spełnia wszelkie

ustawowe wymogi formalne i merytoryczne stawiane rozprawom na stopień doktora zgodnie z art. 187 pkt.1 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574, 583,655, 682 z późn. zm.), stąd wnioskuję do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie rozprawy mgr Marty Karoliny Rupińskiej do dalszych etapów postępowania przewodu doktorskiego.