



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Analityki Medycznej

dr hab. Iwona Bil-Lula, prof. UMW

Wrocław, 05.07.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Barbary Marii Piskór pt.: „Ocena przydatności diagnostycznej stężeń wybranych matrylizyn i stromielizyn w osoczu pacjentek z rakiem piersi”, w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, napisanej pod kierunkiem promotora- prof. dr hab. n. med. Andrzeja Przyłipiaka i promotora pomocniczego dr hab. n. med. Marka Niczyporuka i wykonanej w Zakładzie Medycyny Estetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Rak piersi u kobiet nieprzerwalnie zajmuje pierwsze miejsce pod względem zachorowalności i śmiertelności w większości krajów na świecie i stanowi duże wyzwanie dla współczesnej onkologii. Jest jednym z trzech nowotworów, obok raka szyjki macicy oraz raka jelita grubego, w których wykazano, iż populacyjne badania przesiewowe przynoszą nieocenione korzyści, w postaci wdrażania wczesnego leczenia zachowawczego oraz ograniczenia śmiertelności. Badanie przesiewowe w Polsce i w Europie opiera się głównie na wykonywaniu badania mammograficznego u kobiet w wieku 50-70 lat. Nie bez znaczenia pozostają także samobadanie i samoobserwacja piersi przez pacjentki. Niemniej jednak, brak wczesnych objawów choroby, niska świadomość wśród wybranych grup społecznych oraz niski status socjo-ekonomiczny populacji skutkują późnym wykrywaniem zmian nowotworowych. Tymczasem wykrycie wczesnych zmian patologicznych w gruczole piersiowym, w fazie przedinwazyjnej nowotworu, wiąże się lepszym rokowaniem i szansą na skuteczne wyleczenie.

Współczesna diagnostyka raka piersi włącza ocenę kliniczną pacjenta, badanie fizykalne, diagnostykę obrazową, biopsję gruboigłową oraz badania laboratoryjne, pozwalające na monitorowanie i prognozowanie choroby. W literaturze znaleźć można klasyczne markery nowotworowe jak: antygen nowotworowy 15-3 i 125, antygen karcynoembrionalny, tkankowy specyficzny antygen polipeptydowy. Z uwagi na powszechną dostępność, prostotę wykonania oraz względy ekonomiczne zasadniczo najczęściej wykorzystywanym biomarkerem raka piersi

jest CA 15-3. Jest to jednak marker o niewystarczającej czułości i swoistości diagnostycznej, szczególnie we wczesnych etapach rozwoju choroby. Z tego względu istnieje dalsza potrzeba poszukiwania nowych, wiarygodnych biomarkerów nowotworowych do badań przesiewowych.

Obecnie badania światowe skupiają się na analizie mikrośrodowiska guza, wskazując na wzajemne interakcje pomiędzy komórkami nowotworowymi a elementami zrębu. Proliferacja nowotworu oraz jego zdolność do przerzutowania w dużej mierze zależą od aktywności metaloproteinaz macierzy-MMPs, które m.in. wpływają na integralność struktur tkankowych, ułatwiają tranzycję nabłonkowo-mezenchymalną, regulują angiogenezę w obrębie guza. Wśród metaloproteinaz, na które zwraca się ostatnio szczególną uwagę, znajdują się stromielizyna 1 i 2, oraz matrylizyna 1 i 2. Dane literaturowe potwierdziły m.in. ekspresję MMP-3 oraz MMP-10 w komórkach nowotworowych, w tym komórkach raka piersi. Podobnie wzmożoną ekspresję MMP-7 oraz MMP-26 zaobserwowano, odpowiednio, w komórkach gruczołu piersiowego i raku piersi. Co więcej, wykazano korelację stężenia MMP-7 ze stopniem złośliwości nowotworu i złym rokowaniem dla pacjenta.

Biorąc pod uwagę fakt, iż rak piersi stanowi istotny problem onkologiczny u kobiet, a kampanie profilaktyczne wydają się być niewystarczające, niezwykle istotnym jest poszukiwanie czułych i małoinwazyjnych metod diagnostycznych, pozwalających na rozpoznanie choroby we wczesnym stadium. Z uwagi na powyższe, cel i założenia, przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej, są niezwykle istotne, nowatorskie i wpisują się w ogólnoświatowe trendy naukowe i kliniczne.

Przedstawiona do oceny dysertacja jest opracowaniem na podstawie cyklu 3 publikacji: 1 przeglądowej i dwóch oryginalnych. Podczas przygotowywania rozprawy zachowano logiczną kolejność. W mojej ocenie, układ pracy jest przejrzysty i zgodny z wymaganiami dotyczącymi rozpraw doktorskich.

Dysertację rozpoczyna spis treści oraz wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej. Właściwą treść rozprawy rozpoczyna zwięzłe wprowadzenie, które w sposób syntetyczny i kompleksowy omawia zagadnienia związane z tematem rozprawy doktorskiej. Doktorantka wyczerpująco omówiła dotychczasowe doniesienia i obecny stan wiedzy na temat epidemiologii i czynników ryzyka raka piersi, omówiła algorytm diagnostyczny i znaczenie badań laboratoryjnych. Ponadto we wstępie, w sposób wnikliwy, omówiono przyczyny nieskutecznej profilaktyki i wskazano na deficyty, niezbędne do uzupełnienia w najbliższej przyszłości.

Głównym założeniem i celem rozprawy doktorskiej Pani Barbary Marii Piskór była ocena osocznego stężenia i przydatności diagnostycznej wybranych stromielizyn i matrylizyn, jako potencjalnych biomarkerów nowotworowych u chorych na raka piersi. Cele szczegółowe obejmowały: a) analizę stężeń MMP-3 i 10 oraz MMP-7 i 26, jak i CA 15-3 u pacjentek z

łagodnymi zmianami w piersiach w porównaniu do osób zdrowych, b) charakterystykę przydatności diagnostycznej wybranych biomarkerów oraz c) ocenę przydatności diagnostycznej wybranych markerów jako markerów nowotworowych w diagnostyce raka piersi. Według mojej oceny cel pracy został sformułowany poprawnie, opisany rzeczowo i zrozumiale, a sam pomysł Autorki, dotyczący analizy metaloproteinaz jako markerów raka piersi, uważam za bardzo interesujący i niezwykle istotny w praktyce klinicznej. Co prawda dostępna literatura opisuje ekspresję tkankową poszczególnych MMPs, niemniej jednak istnieją tylko szczątkowe i rozbieżne dane na temat ich osoczowego stężenia u kobiet z rakiem piersi. Dlatego uważam, iż kompleksowa analiza osoczowych stężeń wybranych stromielizyn i matrylizyn w raku piersi nosi znamiona innowacji.

W rozdziale „Realizacja celów naukowych”, liczącym 8 stron, Doktorantka opisuje grupę badaną, zastosowane metody badawcze, wyniki badań, podsumowanie, dyskusję i wnioski. Autorka przeprowadziła badanie w grupie 120 pacjentek z rakiem piersi oraz w grupie kontrolnej, do której włączono 40 pacjentek z łagodnymi zmianami w gruczole piersiowym oraz 40 kobiet zdrowych. Dodatkowo na podstawie klasyfikacji UICC-TNM oceniono stopień zaawansowania nowotworu u pacjentek oraz opisano kryteria wyłączenia, co niewątpliwie świadczy o kompleksowej znajomości przedmiotu i dojrzałości naukowej Doktorantki. Niestety w części poświęconej metodom, nie znaleziono informacji na temat zastosowanych metod statystycznych, aczkolwiek informacje te można odszukać w publikacjach, stanowiących podstawę do przygotowania rozprawy doktorskiej.

W podrozdziale „Wyniki badań, podsumowanie i dyskusja” Doktorantka przedstawiła, w formie opisowej, uzyskane wyniki badań, które także umiejętnie skomentowała i przedyskutowała wobec dotychczasowych doniesień literaturowych. W swojej dysertacji Doktorantka udowodniła istotnie wyższe stężenia MMP-10, MMP-7 i MMP-26 u kobiet z rakiem piersi. Ponadto wykazano, iż stężenie MMP-7 było istotnie wyższe u pacjentek ze zmianami łagodnymi, w porównaniu do kobiet zdrowych, co niewątpliwie mogłoby znaleźć zastosowanie w diagnostyce różnicowej. Ponadto, Pani Piskór wykazała związek badanych MMPs ze stopniem zaawansowania nowotworu. Niezwykle cenne jest wzbogacenie wiedzy o informacji, iż MMP-7 i MMP-10 mogą służyć do dyferencji osób zdrowych i osób z łagodnymi zmianami od pacjentek ze zmianami I stopnia. Podobne obserwacje poczyniono w odniesieniu do kobiet w II stadium choroby. Co istotne, wykazano znaczący wzrost zarówno MMP-7, MMP-10, jak i MMP-26 wraz z progresją nowotworu. Na tej podstawie dowiedziono, iż oznaczenia MMP-7 i MMP-10 mogą być przydatne w diagnostyce różnicowej pacjentek w początkowym stadium choroby i pacjentek zdrowych, a wyższe stężenia markerów u pacjentek ze zmianami łagodnymi, w porównaniu do

kobiet zdrowych mogą świadczyć o początkowej fazie remodelingu mikrośrodowiska okołonowotworowego. W kolejnej części dysertacji dokonano analizy porównawczej rutynowo oznaczanego markera diagnostycznego CA 15-3, gdzie wykazano jego istotną wartość diagnostyczną jedynie w III i IV stopniu zaawansowania. Z tego względu potwierdzono wcześniejsze doniesienia, iż marker ten służy jedynie do monitorowania leczenia oraz wczesnego wykrywania nawrotu choroby u pacjentek leczonych z powodu raka piersi. Potwierdzono, iż CA 15-3 nie może być samodzielnie stosowany jako marker diagnostyczny raka piersi.

Szczególną uwagę zwraca staranna analiza przydatności diagnostycznej potencjalnych biomarkerów, zarówno jako markerów pojedynczych, jak i w kombinacjach panelowych. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę wskazują na wyższą czułość diagnostyczną 3 metaloproteinaz, w porównaniu do CA 15-3. Czułość ta wzrastała wraz z progresją choroby, natomiast specyficzność wybranych parametrów była porównywalna, na poziomie 95%. Podobnie udowodniono wyższą dodatnią i ujemną wartość predykcyjną MMP-7, MMP-10 i MMP-26 w porównaniu do CA 15-3. Niewątpliwą innowacją jest wykazanie wyższej czułości diagnostycznej i wartości predykcyjnych panelu MMP-3/MMP-10/CA 15-3 oraz MMP-10/CA 15-3 w porównaniu do markera odniesienia. Podobnie analiza mocy diagnostycznej testu wykazała, iż pojedyncze markery: MMP-10 i MMP-7 wykazują większą moc diagnostyczną niż oznaczanie CA 15-3, podobnie jak każde połączenie markerów w panel diagnostyczny miało większą moc diagnostyczną niż oznaczanie pojedynczego markera CA 15-3, zarówno w diagnostyce jak i ocenie progresji guza. Jedynym wyjątkiem był panel MMP-3 i CA 15-3 w III i IV stadium nowotworu oraz MMP-26 z CA 15-3 w I stadium zaawansowania raka piersi.

Co warte podkreślenia, bardzo interesujące i obiecujące wyniki Doktorantki stanowią prelude do dalszych badań w tym zakresie. Uzyskane dane będą podstawą do poszerzenia obszaru badawczego na różne typy histologiczne raka piersi oraz zmiany łagodne. Dodatkowo Doktorantka planuje przeanalizować przydatność diagnostyczną badanych enzymów w połączeniu z innymi markerami raka piersi, włączając receptor estrogenowy, receptor progesteronowy, HER-2 czy Ki-67. Uważam, iż konstruktywna analiza otrzymanych przez Doktorantkę wyników, pozwalająca na podjęcie rozważań nad kolejnymi badaniami, świadczą o niezwyklej dojrzałości naukowej Pani Piskór i wróżą karierę wnikliwego i dociekliwego naukowca.

Na podstawie przeprowadzonych badań i szerokiej dyskusji Doktorantka wyciągnęła 4, poprawnie sformułowane, wnioski. Wnioski logicznie wynikają z uzyskanych wyników i odpowiadają postawionym przez Doktorantkę celom. Główna konkluzja wskazuje na ścisły związek pomiędzy rakiem piersi oraz podwyższonym stężeniem MMP-7, -10, -26 oraz CA 15-3 w osoczu. Wykazano także, iż MMP-10 może być użytecznym markerem do różnicowania

pacjenteń zdrowych i chorych we wczesnych stadiach nowotworu lub ze zmianami łagodnymi. Na podstawie przeprowadzonych analiz wywnioskowano, iż MMP-10 pretenduje do roli markera o najwyższej przydatności diagnostycznej, zarówno jako marker pojedynczy, jak i w panelu diagnostycznym z CA 15-3. Bardzo interesującym wnioskiem, który wnosi nowe spojrzenie na diagnostykę raka piersi, jest konieczność konstruowania paneli wybranych markerów diagnostycznych, co istotnie zwiększa czułość i wartości predykcyjne testów.

Pracę kończy spis literatury, w którym odniesiono się do 68 pozycji literaturowych, wyłącznie obcojęzycznych, przedstawiających doniesienia z lat 2000-2021, z czego 69% stanowiły doniesienia z ostatnich 5-lat. W pozycjach 41 i 53 brakuje tomu i numerów stron.

W rozdziale 7 zamieszczono streszczenia w języku polskim i angielskim, w których Autorka w sposób klarowny i zrozumiały przedstawiła założenia, metodykę, uzyskane wyniki i wnioski z rozprawy doktorskiej.

Według mojej opinii, wyniki przeprowadzonych przez Doktorantkę badań są niezwykle interesujące, mają wysoki potencjał implikacyjny i mogą stanowić preludium do dalszych badań w tym zakresie. Jako recenzent, a zarazem diagnosta laboratoryjny i specjalista laboratoryjnej diagnostyki medycznej, w którego obszarze zainteresowań znajdują się metaloproteiny i choroby nowotworowe, z wielką przyjemnością mogę stwierdzić, iż powyższe wyniki mogą okazać się w przyszłości cennymi danymi w opracowaniu nowych algorytmów diagnozowania i monitorowania chorych z rakiem piersi.

Z obowiązku jako Recenzenta przedłożonej rozprawy doktorskiej chciałabym przedłożyć pojedyncze sugestie, które w przyszłości mogą prowadzić do udoskonalenia prac naukowych Autorki. Mianowicie, w niniejszej rozprawie doktorskiej, zastosowano jedynie formę opisową, najistotniejszych wyników badań. W mojej opinii zobrazowanie wszystkich wyników w postaci rycin oraz usystematyzowanie ich w formie tabel byłoby bardziej użyteczne dla czytelnika i ułatwiłoby pracę z tekstem. W tabeli obrazującej charakterystykę grupy badanej pojawiła się informacja o stanie hormonalnym pacjentek (stan pre- i postmenopauzalny kobiet). Uważam, iż bardzo interesująca byłaby analiza stężeń wybranych biomarkerów w kontekście stanu pre- i postmenopauzalnego, i jego wpływu na wyniki u pacjentek z nowotworem. Pragnę jednak stanowczo podkreślić, iż wskazane przeze mnie sugestie nie ujmują, w żadnym wypadku, wysokiej, merytorycznej jakości rozprawy doktorskiej.

Podsumowując uważam, iż przedłożona do recenzji dysertacja jest przemyślana oraz dobrze zaprojektowaną pracą i zawiera wszystkie wymagane elementy rozprawy doktorskiej. Wyniki badań przedstawiono w sposób logiczny, rzetelny, przejrzysty i konsekwentny, co potwierdza umiejętność Doktorantki samodzielnego projektowania i prowadzenia prac

badawczych. Potwierdzony przez współautorów, wysoki wkład Autorki w powstanie artykułów naukowych, stanowiących cykl prac, (60-75%) świadczy o dużym wysiłku Doktorantki, podczas przygotowywania rozprawy. **W związku z powyższym wnioskuję o uznanie powyższej dysertacji za wyróżniającą się.**

Stwierdzam zatem, że rozprawa Pani Barbary Marii Piskór pt.: „Ocena przydatności diagnostycznej stężeń wybranych matrylizyn i stromielizyn w osoczu pacjentek z rakiem piersi” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wszystkie wymogi zwyczajowe i ustawowe, stawiane rozprawom doktorskim w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych, określone w art. 13 ustawy 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 mam ogromny zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie Pani Barbary Marii Piskór do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA ANALITYKI MEDYCZNEJ
kierownik

dr hab. Iwona Bil-Lula, prof. uczelni
(1)