

Recepcje naukowe. wnioski o wyznaczenie

Prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska
Gdańsk 22 12 2022

dr hab. n. med. Agnieszka Kuchta
Zakład Chemii Klinicznej
Katedra Analityki Klinicznej
Gdański Uniwersytet Medyczny
Marii Skłodowskiej-Curie 3a,
80-210 Gdańsk

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Kornela Bielawskiego

pt. „**Ocena przydatności oznaczania heparanazy, wybranych markerów angiogenezy, hemostazy oraz hormonów wydzielanych przez tkankę tłuszczową jako czynników prognostycznych w grupie pacjentek z rozpoznaniem pierwotnym nowotworem piersi.**”

Promotor pracy dr hab. n. med. Barbara Ruszkowska-Ciastek

Katedra Patofizjologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Przedstawiona do recenzji praca doktorska porusza ważne klinicznie i aktualne zagadnienie poszukiwania nowych markerów, przydatnych w klasyfikacji, doborze terapii i prognozowaniu ryzyka nawrotu choroby u pacjentek z rakiem piersi.

Rak piersi jest w Polsce najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet i mimo obserwowanego rozwoju diagnostyki oraz terapii drugą po raku płuca przyczyną zgonów nowotworowych wśród kobiet. Trudności w postępowaniu diagnostyczno-terapeutycznym wynikają między innymi z dużej heterogenności pod względem klinicznym, histopatologicznym, molekularnym i genetycznym nowotworów piersi. Dlatego poszukiwanie nowych, łatwo dostępnych i użytecznych w codziennej praktyce klinicznej markerów jest zadaniem istotnym dla przyszłej poprawy skuteczności leczenia nowotworów piersi.

W ramach przedstawionego projektu w grupie pacjentek z pierwotnym jednostronnym nowotworem piersi oceniono stężenie heparanazy, wybranych markerów angiogenezy, hormonów wydzielanych przez tkankę tłuszczową, markerów stanu zapalnego oraz liczbę komórek progenitorowych śródbłonna i aktywność czynnika tkankowego (TF). Określono także zależność pomiędzy analizowanymi parametrami a wybranymi wskaźnikami antropometrycznymi i wskaźnikami kliniczno-patologicznymi. Dodatkowo oceniono wartość prognostyczną analizowanych parametrów w przewidywaniu nawrotu choroby nowotworowej.

Przedstawiona do oceny praca doktorska stanowi zbiór spójnych tematycznie trzech prac eksperymentalnych opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych o

łącznym IF 11,849. We wszystkich pracach doktorant należy do pierwszych autorów, przy czym w publikacji opublikowanej w Journal of Clinical Medicine w roku 2021 równy wkład w powstanie publikacji miało dwóch pierwszych autorów. Zaprezentowane prace są publikacjami wieloautorskimi, co jest uzasadnione biorąc pod uwagę zakres prowadzonych prac eksperymentalnych i podjętą problematykę badawczą. W przesłanych materiałach znajdują się oświadczenia współautorów ocenianych publikacji, z których wynika że wkład merytoryczny mgr Kornela Bielawskiego w powstanie prac cyklu polegał na przeglądzie piśmiennictwa, analizie statystycznej oraz interpretacji uzyskanych wyników, podsumowaniu i sformułowaniu ostatecznych wniosków badawczych oraz redakcji manuskryptu.

Zebrane publikacje zostały poprzedzone obszernym, liczącym 58 stron, wstępem, w którym doktorant poruszając zagadnienia epidemiologiczne i możliwości diagnostyczno-terapeutyczne stopniowo wprowadza czytelnika w problematykę nowotworów piersi. Autor przedstawia także aktualny stan wiedzy na temat znaczenia stanu zapalnego, angiogenezy i zmian w macierzy zewnątrzkomórkowej dla przebiegu choroby nowotworowej, wyjaśniając tym samym podjęty cel badawczy. Wstęp wzbogacony został o 13 tabel i 29 rycin, które znacznie ułatwiają odbiór i podsumowują przedstawione informacje. Bibliografia wykorzystana we wstępie liczy 100 pozycji z czego ponad 90% to publikacje z ostatnich 10 lat. Przedstawiona do oceny rozprawa zawiera ponadto streszczenie w języku polskim i angielskim, opis celów badań oraz główne wnioski pracy, a także wykaz skrótów i prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

W pierwszej, z przedstawionych do oceny prac, opublikowanej w 2019 roku w Journal of Physiology and Pharmacology autorzy objęli badaniem i obserwacją 86 kobiet z pierwotnym jednostronnym rakiem piersi w stopniu zaawansowania IA-IIB (mediana okresu obserwacji - 33,5 miesiąca), u których metodami immunochemicznymi oceniono stężenie heparanazy, naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu A (VEGF-A) oraz rozpuszczalnych form receptora 1 i receptora 2 dla VEGF. Przy użyciu cytometrii przepływowej w badanej grupie kobiet oceniono także liczbę krążących komórek progenitorowych śródbłonka.

Badania ostatnich lat wyraźnie wskazują, że ważnym elementem w rozwoju i progresji choroby nowotworowej są zmiany integralności macierzy zewnątrzkomórkowej. Heparanaza jest endo- β -glukuronidazą, która specyficznie rozszczepia łańcuchy boczne siarczanu heparanu proteoglikanów (HSPG), które są podstawowymi składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej, zapewniającymi jej integralność strukturalną. Aktywność enzymatyczna heparanazy prowadzi do dezintegracji macierzy zewnątrzkomórkowej i uwolnienia angiogennych czynników wzrostu związanych z HSPG. Badania pokazują, że heparanaza jest silnie zaangażowana w

rozwój stanu zapalnego oraz progresję choroby nowotworowej, a wzrost stężenia enzymu koreluje ze zwiększoną gęstością naczyń i krótszym czasem przeżycia wolnym od nawrotu choroby.

W wyniku przeprowadzonych w pracy badań i analiz statystycznych wykazano istotnie wyższe stężenie heparanazy wśród pacjentek z rakiem piersi z ujemnym statusem receptora estrogenowego oraz progesteronowego w porównaniu do pacjentek z dodatnim statusem tych receptorów, a także istotnie wyższe stężenie heparanazy w podgrupie pacjentek z guzami o średnicy od 2 do 5 cm w porównaniu do podgrupy pacjentek z guzami o średnicy poniżej 2 cm. Dodatkowo wykazano istotne interakcje pomiędzy stężeniem heparanazy a badanymi czynnikami waskulogenezy i angiogenezy pokazując znaczenie heparanazy i równowagi pomiędzy czynnikami pro- i antyangiogennymi w progresji choroby i powstaniu przerzutów. Z przeprowadzonych badań wynika także, że wysokie stężenie heparanazy może być predyktorem krótszego przeżycia bez progresji choroby, a zaproponowany w pracy punkt odcięcia to 213,74 pg/ml.

Przedstawione w pierwszej pracy wyniki zostały potwierdzone także przez innych badaczy, między innymi w pracy opublikowanej dwa lata później w NPJ Breast Cancer, Zahavi i wsp. pokazali, że heparanaza wiąże się z gorszym rokowaniem w nowotworach z dodatnim receptorem estrogenowym i może być predyktorem oporności na chemioterapię poprzez zwiększenie żywotności komórek.

Zagadnienie stężenia heparanazy w kontekście terapii raka piersi jest tematem kolejnej z recenzowanego cyklu prac opublikowanej w 2021 roku w Journal of Clinical Medicine, której celem była ocena zmiany stężenia heparanazy przed i po leczeniu oraz określenie przydatności diagnostycznej tych badań w celu przewidywania wystąpienia progresji oraz nawrotu choroby nowotworowej u pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi poddanych terapii uzupełniającej. Badaniem zostało objętych 80 pacjentek a mediana czasu obserwacji wynosiła 55 miesięcy. Uzyskane wyniki potwierdziły przedstawione w pierwszej pracy różnice w stężeniu heparanazy pomiędzy przypadkami nowotworów bez receptorów estrogenowych i progesteronowych a przypadkami raków dodatnich. Wyższe stężenie heparanazy ponownie odnotowane także w guzach o większej średnicy. Wykazano także istotnie niższe wskaźniki przeżycia wolnego od progresji choroby u pacjentów z wysokim stężeniem heparanazy przed leczeniem, proponując punkt odcięcia 181,46 pg/ml.

Wyniki stężenia heparanazy przed leczeniem chirurgicznym i po zastosowaniu leczenia adjuwantowego istotnie korelowały w całej badanej grupie pacjentek wykazując jednocześnie prawie czterokrotny spadek w badaniu po zakończeniu terapii. Jak pokazały zastosowane

analizy, stężenie heparanazy przed leczeniem było głównym predykatorem zmian stężenia heparanazy po leczeniu uzupełniającym.

Interesuje mnie dlaczego w zastosowanym schemacie badania nie uwzględniono analizy stężenia heparanazy bezpośrednio przed leczeniem uzupełniającym a jedynie badanie na samym początku terapii? Czy mogło mieć to wpływ na brak istotnego wpływu zastosowanych schematów terapeutycznych na zmiany w stężeniu heparanazy? Ocena samego leczenia uzupełniającego wydaje się być także interesująca z uwagi na cytowane w pracy badania pokazujące wzrost ekspresji heparanazy pod wpływem chemoterapii a także wyniki badań, które pokazują wzrost ekspresji heparanazy pod wpływem klinicznych dawek promieniowania jonizującego.

Ostatnia z cyklu prac opublikowana w roku 2020 w Journal of Clinical Medicine dotyczy problemu otyłości i związanych z nią parametrów jako czynników prognostycznych w przebiegu nowotworów piersi i oceny ryzyka nawrotu choroby.

Otyłość jest dobrze poznanym czynnikiem ryzyka zachorowania na raka piersi. Jedna na dwie kobiety z rakiem piersi ma nadwagę lub otyłość. Ponadto otyłość powiązana jest z bardziej agresywnym fenotypem raka piersi, z częstszymi przerzutami do węzłów chłonnych i gorszym rokowaniem. Otyłość jest także powszechnie uznawana za przewlekły stan zapalny niskiego stopnia, a stan zapalny jest jednym z najbardziej prawdopodobnych czynników przyczyniających się do związku otyłości z rakiem.

Potencjalne mechanizmy biologiczne łączące otyłość z rakiem piersi obejmują głównie nadmierną ekspozycję gruczołów sutkowych na obfite wydzielanie estrogenów, cytokin, mediatorów prozapalnych i czynników wzrostu, wraz ze zmienionym profilem adipokin. W przebiegu choroby nowotworowej rozważane jest także powiązanie otyłości z aktywacją krzepnięcia i reakcją zapalną zależną od TF.

Przedstawione w omawianej publikacji prospektywne badanie miało na celu ocenę związku między wskaźnikiem masy ciała a stężeniem białka YKL-40, leptyny i adiponektyny w surowicy, a także aktywnością TF w osoczu przed rozpoczęciem leczenia oraz przyszłym rokowaniem wyrażonym jako czas wolny od nawrotu choroby nowotworowej. Powyższe parametry analizowano w grupie 81 kobiet z nowozdiagnozowanym inwazyjnym rakiem piersi, mediana okresu obserwacji wynosiła 44 miesiące.

Białko YKL-40 jest opisywane zarówno jako potencjalny czynnik prognostyczny w chorobach nowotworowych, jak również jako marker stanu zapalnego. Zapobiega ono apoptozie i promuje proliferację komórek nowotworowych poprzez regulację w górę czynników antyapoptotycznych, proproliferacyjnych i proangiogennych.

Analiza uzyskanych w recenzowanej pracy wyników wykazała znacznie większą częstość nawrotów choroby u pacjentów z wysokim wyjściowym stężeniem YKL-40 i aktywnością TF. Wskaźnik masy ciała był niezależnym predyktorem przeżycia, przy czym kobiety z nadwagą/otyłością były mniej podatne na nawroty. Połączenie prawidłowego BMI z wysokim poziomem leptyny i niskim poziomem adiponektyny oraz wysoką aktywnością TF wiązało się ze zwiększonym ryzykiem nawrotu i zmniejszonym przeżyciem.

Jak podkreślają autorzy pracy wyniki pokazujące znaczenie nadwagi w prognozowaniu przebiegu nowotworów piersi są jednocześnie interesujące i zaskakujące. W kontekście wyników wcześniejszych prac powinny być przede wszystkim wezwaniem do dalszych badań nad znaczeniem otyłości i związanych z nią zaburzeń metabolicznych w przebiegu chorób nowotworowych.

Wychodząc poza zakres celu realizowanego w omawianej powyżej pracy proszę odpowiedzieć na pytanie, czy znane są mechanizmy łączące aktywność heparanazy z otyłością i związaną z nią insulinoopornością.

Podsumowując stwierdzam, że mgr Kornel Bielawski zrealizował zakres badań będący celem dysertacji. Problem badawczy został poprawnie sformułowany. Praca zawiera oryginalne i wartościowe wyniki. Badania zostały rzetelnie zaplanowane, przeprowadzone i mogą stanowić podstawę dalszych badań dotyczących wykorzystania heparanazy, czynników angiogenezy i hormonów tkanki tłuszczowej jako czynników prognostycznych w raku piersi. Przedstawiona rozprawa doktorska spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim określone w art. 187 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021 r., poz. 478 ze zm.). Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie magistra Kornela Bielawskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto biorąc pod uwagę szeroki zakres prac badawczych wartość naukową otrzymanych wyników, a także fakt, iż wszystkie zaprezentowane wyniki zostały opublikowane wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej magistra Kornela Bielawskiego.



dr hab. n. med. Agnieszka Kuchta

