

Recenzje naukowe. Wniosek o uproszczenie
M. Formanowicz

Prodziekan
Wydziału Lekarskiego
i ds. Nauki

UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu



KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII MEDYCZNEJ I MEDYCZYNY LABORATORYJNEJ

Adres: 60-806 Poznań
ul. Rokietnicka 8
Centrum Biologii Medycznej

Sekretariat + 48 61 854 77 00
fax. + 48 61 854 77 02
Kierownik: prof.dr.hab. Dorota Formanowicz
e-mail: cml-kontakt@ump.edu.pl
www.cml.ump.edu.pl

Prof. dr hab. Dorota Formanowicz
Katedra i Zakład Chemii Medycznej i Medycyny Laboratoryjnej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
e-mail: doforman@ump.edu.pl

Poznań, 27 grudnia 2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej magistra Kornela Bielawskiego
na podstawie cyklu prac na temat: „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: dr hab. Barbara Ruskowska-Ciastek, prof. UMK

1. Ocena merytoryczna

Rozprawa doktorska magistra Kornela Bielawskiego ma formę spójnego tematycznie zbioru trzech oryginalnych prac, opublikowanych w latach 2019 - 2021 w recenzowanych czasopismach, znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR). Sumaryczny współczynnik oddziaływania impact factor (IF) wynosi 11,849, a punktacja MNiSW – 350 pkt.

W trzech pracach Doktorant jest pierwszym autorem (w tym w jednej pracy jest pierwszym równorzędnym autorem); udział własny mgr Bielawskiego w tych pracach wynosi odpowiednio: 65%, 75% i 45%, co potwierdza jego wiodącą rolę w realizacji prezentowanych badań.

Rozprawa doktorska magistra Bielawskiego składa się z dziesięciu rozdziałów (przedstawionych na 163 stronach). W rozdziale I. znajduje się Wstęp podzielony na trzy części: 1. Nowotwór piersi; 2. Mikrośrodowisko nowotworowe oraz 3. Heparanaza, w których Autor z należytą wnikliwością wprowadza czytelnika rozprawy w prezentowane zagadnienia. W rozdziale II zostały przedstawione cele badań, a w rozdziale III umieszczono monotematyczny cykl publikacji. Każda z trzech prac została oddzielnie przedstawiona, scharakteryzowano grupę badaną, przedstawiono cele szczegółowe, wyniki i wnioski; Autor umieścił tu także skany trzech publikacji, wchodzących w skład cyklu. W rozdziale IV umieszczono podsumowanie, w rozdziale V zostały zebrane wnioski (trzy dla publikacji nr 1; cztery dla publikacji nr 2; oraz pięć wniosków dla publikacji nr 3). Następnie, w rozdziale VI Autor zamieścił streszczenia w języku polskim i języku angielskim. Rozdział VII zawiera

bibliografię, w której znalazło się 100 pozycji w większości z lat 2015-2021. Rozdziały VIII i IX – obejmują spisy 29 rycin i 13 tabel, odpowiednio. Z kolei w rozdziale X, Doktorant zamieścił skan zgody na badanie wydany przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu oraz oświadczenia współautorów publikacji, stanowiących podstawę postępowania w sprawie o nadanie stopnia naukowego doktora.

Rozprawa napisana jest w sposób przejrzysty, zrozumiały i spójny, uwzględnia niezbędne zagadnienia związane z tematyką rozprawy. Ciekawe, staranie przygotowane ryciny i tabele, o przemyślanym układzie, wzbogacają pracę.

Publikacje tworzące cykl:

1. Bielawski K, Rhone P, Bielawska S, Rosc D, Brkic A, Zarychta E, Ruszkowska-Ciastek B. Heparanase link between vasculogenesis and angiogenesis as well as a predictive factor of a shorter survival rate. *J Physiol Pharmacol.* 2019, 70, 455 - 466. doi: 10.26402/jpp.2019.3.13.
2. Bielawski K, Rhone P, Bulsa M, Ruszkowska-Ciastek B. Pre-Operative Combination of Normal BMI with Elevated YKL-40 and Leptin but Lower Adiponectin Level Is Linked to a Higher Risk of Breast Cancer Relapse: A Report of Four-Year Follow-Up Study. *J Clin Med.* 2020, 9, 1742. doi: 10.3390/jcm9061742.
3. Ruszkowska-Ciastek B, Bielawski K, Zarychta E, Rhone P. Impact of Adjuvant Treatment on Heparanase Concentration in Invasive, Unilateral Breast Cancer Patients: Results of a Prospective Single-Centre Cohort Study. *J Clin Med.* 2021, 10, 2184. doi: 10.3390/jcm10102184.

2. Trafność podjętej problematyki i jej oryginalność

Raki piersi, ze względu na dużą heterogeniczność kliniczną, histopatologiczną, molekularną i genetyczną, pomimo postępu diagnostycznego i leczniczego, są nadal jednymi z najczęstszych nowotworów na świecie; charakteryzują się zmienną dynamiką, niepewnym rokowaniem i często wysoką śmiertelnością. Rozwój raków piersi ściśle związany jest z czynnikami hormonalnymi, środowiskowymi oraz stylem życia. Do tego w 10% dochodzą mutacje w genach BRCA1 i BRCA2.

Ta ogromna różnorodność raków piersi wiąże się z ich dużą zmiennością i stąd konieczność poszukiwania nowych markerów, które umożliwiłyby lepsze prognozowanie. Aby znaleźć biomarkery, należy bardzo dobrze rozumieć biologię guza i mechanizmy, które leżą u jego podłoża. Rozprawa doktorska magistra Bielawskiego wpisuje się w ten nurt poszukiwań, a zaproponowane przez Doktoranta markery świadczą o bardzo dobrej znajomości poruszanej tematyki badawczej.

3. Ocena prac składających się na cykl publikacyjny

Praca nr 1.

Bielawski K, Rhone P, Bielawska S, Rosc D, Brkic A, Zarychta E, Ruszkowska-Ciastek B. Heparanase link between vasculogenesis and angiogenesis as well as a predictive factor of a shorter survival rate. *J Physiol Pharmacol.* 2019, 70, 455 - 466. doi: 10.26402/jpp.2019.3.13.

Badaniem objęto 86 kobiet (mediana wieku 55 lat) z pierwotnym jednostronnym nowotworem piersi w stopniu zaawansowania IA-IIB (bez przerzutów odległych); punktami końcowymi uznano wystąpienie przerzutów choroby nowotworowej, zgonu, lub ostatni kontakt (koniec marca 2019 r.). U badanych oceniono, z zastosowaniem testów immunoenzymatycznych, stężenia heparanazy, naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF-A) oraz rozpuszczalnych form receptora 1 i 2 (sVEGFR-1 i sVEGFR-2); oraz przy użyciu cytometrii przepływowej określono liczbę krążących komórek progenitorowych śródbłonka o immunofenotypie (CD45-/CD34+/CD31+/CD133+). Jako cel autorzy postawili sobie analizę stężeń wybranych parametrów angiogennych oraz liczbę krążących komórek progenitorowych śródbłonka w podgrupach utworzonych w oparciu o niskie, średnie i wysokie stężenia heparanazy. Ten podział był także podstawą analiz z zastosowaniem krzywej przeżycia Kaplana-Meiera, w celu wykrycia grupy chorych o największym prawdopodobieństwie nawrotu choroby nowotworowej. Ponadto wyznaczono krzywe ROC dla badanych parametrów, oraz krzywą ROC i regresję Cox'a dla modelu, który uwzględniał te parametry – po to aby ocenić ich zdolność do przewidywania nawrotu choroby nowotworowej. W przypadku heparanazy dodatkowo wzięto pod uwagę cechy demograficzne, antropometryczne, molekularne i kliniczno-patologiczne. Uzyskane wyniki pozwoliły na wnioskowanie, iż wysokie stężenie heparanazy (>200 pg/ml), może być wskaźnikiem krótszego przeżycia bez progresji choroby; u 23,5% pacjentek z grupy z wysokim stężeniem heparanazy - stwierdzono nawrót choroby nowotworowej, co było zdecydowanie częstsze w porównaniu z 4% obserwowanymi w grupie z niskim stężeniem heparanazy (<140 pg/ml). Zauważono, że związki pomiędzy heparanazą, waskulogenezą oraz angiogenezą mogą być kluczowe w rozwoju przerzutów. Wyższe stężenie heparanazy zestawiono z wielkością guza oraz brakiem ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych, co uznano, że może to świadczyć o przydatności heparanazy jako wskaźnika bardziej agresywnego charakteru komórek nowotworowych i krótszego okresu przeżycia.

Praca nr 2.

Bielawski K, Rhone P, Bulsa M, Ruszkowska-Ciastek B. Pre-Operative Combination of Normal BMI with Elevated YKL-40 and Leptin but Lower Adiponectin Level Is Linked to a Higher Risk of Breast Cancer Relapse: A Report of Four-Year Follow-Up Study. *J Clin Med.* 2020, 9, 1742. doi: 10.3390/jcm9061742.

Do badania zakwalifikowano 81 pacjentek (mediana wieku 54 lat) z jednostronnym inwazyjnym nowotworem piersi (stopień IA-IIB), w tym ponad połowa pacjentek miała nadwagę lub otyłość. Pacjentki były obserwowane przez 44 miesiące. W ramach tego badania, przy użyciu testów enzymatycznych oceniono stężenia: adiponektyny, leptyny, białka YKL-40; z kolei czynnik tkankowy oceniono testem chromogennym. Celem tego badania była ocena zależności pomiędzy badanymi markerami a cechami demograficznymi, antropometrycznymi, molekularnymi, oraz kliniczno-patologicznymi. Przeprowadzone analizy wykazały m.in., że stężenie YKL-40 było wyższe w grupie pacjentek, które miały 1 dziecko, w porównaniu z tymi, które miały 2 lub 3 dzieci, z kolei wyższe stężenia adiponektyny zostały stwierdzone wśród pacjentek z 1 lub 2 dzieci, w porównaniu z tymi, które miały 3 dzieci. Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie ciekawych wniosków, w których stwierdzono, iż kobiety z prawidłową masą ciała charakteryzowały się trzykrotnie wyższym ryzykiem nawrotu choroby lub zgonu w porównaniu z kobietami z nadwagą. Pacjentki z rakiem piersi i nadwagą miały lepsze rokowania, co ciekawe było to niezależne od stężenia YKL-40, leptyny i adiponektyny.

Praca nr 3.

Ruszkowska-Ciastek B, Bielawski K, Zarychta E, Rhone P. Impact of Adjuvant Treatment on Heparanase Concentration in Invasive, Unilateral Breast Cancer Patients: Results of a Prospective Single-Centre Cohort Study. *J Clin Med.* 2021, 10, 2184. doi: 10.3390/jcm10102184.

Badaniem objęto 80 pacjentek, w tym 53 – po menopauzie. Mediana obserwacji wynosiła 55 miesięcy. Celem tego badania była ocena stężenia heparanazy przed i po leczeniu oraz określenie jej przydatności diagnostycznej w celu przewidziania wystąpienia progresji oraz nawrotu choroby nowotworowej u pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi. Zaobserwowano, iż po leczeniu, niezależnie od zastosowanego schematu leczenia, stężenie heparanazy było 4 krotnie niższe w porównaniu ze stężeniem heparanazy ocenionym przed leczeniem. Stężenia heparanazy różniły się w zależności od wielkości guza (guzy T2 - wyższe stężenie), obecności lub braku ekspresji receptorów estrogenowych (ER), podtypu. Ponadto, okazało się, że po leczeniu, stężenie heparanazy nie miało funkcji prognostycznych.

4. Ocena uzyskanych wyników i ich znaczenie

Przedstawiona do recenzji rozprawa posiada nowatorski charakter. Propozycja wykorzystania do prognozowania w nowotworach piersi - heparanazy, jedyne go enzymu u ssaków, rozszczepiającego siarczan heparanu, jest szczególnie interesująca. Heparanaza, wykazuje bowiem aktywność enzymatyczną i nieenzymatyczną, a dezintegrując macierz zewnątrzkomórkową ułatwia naciekanie tkanek przez komórki nowotworowe; stymuluje migrację i inwazję komórek śród błonki. Badania z wykorzystaniem inhibitorów heparanazy ukazują, że heparanaza może wykazywać działania zarówno pro jak i przeciw nowotworowe. Jako, że zainteresowanie heparanazą w kontekście nowotworzenia, rozpoczęło się dopiero w latach 80-tych XX wieku, to badania w tym zakresie są nadal bardzo aktualne.

5. Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Doktorant posługuje się w rozprawie poprawnym słownictwem, wszystkie skróty są wyjaśnione w wykazie skrótów i konsekwentnie używane. Medyczny język angielski i język polski są używane w sposób prawidłowy. Praca jest poprawna pod względem językowym, stylistycznym i interpunkcyjnym. Nie znalazłam tu uchybień.

6. Ocena metodologiczna

Piśmiennictwo zostało dobrane w sposób aktualny, adekwatny i jest prawidłowo cytowane w tekście.

Cele zaprezentowane w rozprawie są prawidłowe, aczkolwiek mam pewne zastrzeżenia odnośnie niektórych ich sformułowania. Chciałabym zwrócić uwagę, iż należy raczej unikać sformułowań, iż celem była ocena stężenia... Cele należy rozumieć jako pytania badawcze i odpowiedź na nie powinna się znaleźć we wnioskach. Ponadto byłoby zdecydowanie bardziej przejrzyste, gdyby cele w rozdziale II zostały przedstawione w punktach, tak aby później każdy punkt znalazł poparcie w przedstawionych wynikach i wnioskach.

Opis metodyki przeprowadzonych badań jest wystarczający, a analizy statystyczne zostały przeprowadzone prawidłowo, zarówno ich dobór, jak i wykorzystanie odpowiednich testów świadczą o bardzo dobrym warsztacie badawczym Doktoranta.

7. Zgadnienia do wyjaśnienia:

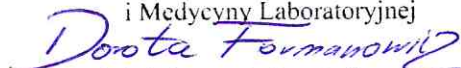
1. Dlaczego autorzy w tytule użyli pojęcia nowotwór piersi i stosują wymiennie w tekście w języku polskim rak i nowotwór. Te pojęcia nie są tożsame.
2. Dlaczego do grupy badanej nie włączono pacjentek z nowotworami piersi o wyższym stopniu zaawansowania niż IIB?
3. Jakie dodatkowe badania warto byłoby wykonać w grupie badanej w celu wzmocnienia wartości uzyskanych wniosków?
4. Dlaczego wśród pacjentek z grupy badanej nie wykonano oznaczeń występowania genów takich jak BRCA1 i BRCA2?
5. Biorąc pod uwagę datę opublikowania wyników badań, czy analizowano wpływ dłuższego czasu obserwacji grupy badanej na wyniki krzywych przeżycia Kaplana-Meiera?

Wniosek końcowy

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską magistra Kornela Bielawskiego na podstawie cyklu prac na temat: „*Ocena przydatności oznaczania heparanazy, wybranych markerów angiogenezy, hemostazy oraz hormonów wydzielanych przez tkankę tłuszczową jako czynników prognostycznych w grupie pacjentek z rozpoznanych pierwotnym nowotworem piersi*” oceniam bardzo wysoko, jest to spójne tematycznie opracowanie dotyczące oceny wybranych markerów jako czynników prognostycznych w pierwotnym raku piersi.

W mojej opinii rozprawa spełnia wszystkie wymogi określone dla prac doktorskich w art. 187 ustawy z dnia 20.07.2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 poz.85 z późn.zm) o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki w związku z tym przedkładam wniosek do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycyny Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy o dopuszczenie magistra Kornela Bielawskiego do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych.

Ponadto wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

Kierownik
Katedry i Zakładu Chemii Medycznej
i Medycyny Laboratoryjnej

Prof. dr hab.n.med. Dorota Formanowicz