

Recenzja rozprawy
Włodzisław o inżynierii
Kowalewski



Katedra i Zakład Patomorfologii
Wydział Medycyny i Stomatologii
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin

Przewodnicząca
Rady Dyscypliny Nauki Medyczne
Katarzyna Sierakowska
dr hab. Katarzyna Sierakowska, prof. UMK

Szczecin, 23.05.2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Adama Kowalewskiego
pt.: „Origination of the concept of targeted, anti-evolutionary cancer
therapy and identification of potential molecular targets for such therapy
against clear cell renal cell carcinoma”

promotor: prof. dr hab. n. med. Dariusz Grzanka

promotor pomocniczy: dr hab. n. med. Łukasz Szylberg, prof. UMK

Recenzji przedstawionej mi rozprawy doktorskiej dokonałem zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Medyczne *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z dnia 22.03.2023 r. powołującą mnie na recenzenta powyższej pracy doktorskiej pismem z dnia 05.04.2023 r.

W skali globalnej rak nerki stanowi 2% zachorowań na wszystkie raki ze wzrostem zachorowań na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat (1990 – 2020). Najczęstszym typem histologicznym sporadycznego raka nerki jest rak jasnokomórkowy. Różnorodny przebieg kliniczny tego raka, zdolność do dawania późnych przerzutów odległych, również drogą hematogenną (do płuc, centralnego układu nerwowego, kości) oraz do nietypowych lokalizacji (np. trzustki, tarczycy, ślinianki) sugeruje jego wysoce heterogenną naturę na poziomie molekularnym. Poza dobrze zbadaną ścieżką inaktywacji genu supresorowego *VHL*, ostatnie lata przyniosły odkrycia innych mutacji w zakresie genów m.in. ścieżek sygnałowych, niektórych wzajemnie wykluczających się, które okazały się być związane z różną agresywnością przebiegu klinicznego raków jasnokomórkowych nerki, jak również mogącymi wpływać na tropizm narządowy przerzutów guza pierwotnego. Ponadto analiza

ekspresji genów w przerzutowych rakach jasnokomórkowych nerki pozwoliła wyróżnić podtypy o różnej odpowiedzi na różne strategie lekowe.

W przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu lekarza Adama Kowalewskiego pt: „*Origination of the concept of targeted, anti-evolutionary cancer therapy and identification of potential molecular targets for such therapy against clear cell renal cell carcinoma*” autor skupia się na problemie ścieżek ewolucyjnych raka jasnokomórkowego nerki oraz ocenie ekspresji dwóch wybranych białek (TRIP13 i kif11) mogących mieć znaczenie nie tylko prognostyczne i predykcyjne a także stanowić podstawę nowych strategii terapeutycznych.

Rozprawa doktorska lekarza Adama Kowalewskiego została przygotowana w Katedrze Patomorfologii Klinicznej Wydziału Lekarskiego *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w oparciu o materiał histologiczny z raków jasnokomórkowych nerek w powiązaniu z danymi klinicznymi. Część doświadczalna była finansowana w ramach grantu Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (POWR.03.02.00-00-I019/16).

Oceniana przeze mnie rozprawa doktorska ma układ „hybrydowy” obejmując cykl trzech spójnych tematycznie publikacji dodatkowo opatrzonych: streszczeniem w języku angielskim i polskim, wstępem, prezentacją celów rozprawy, analizą załączonych publikacji, opisem materiałów i metod, wynikami wraz z ich dyskusją, wnioskami, spisem piśmiennictwa i oświadczeniami współautorów publikacji, co w tej części stanowi typowy układ prac doktorskich uzupełniający wspomniane wyżej artykuły. W całości rozprawa wraz z trzema publikacjami obejmuje 70 stron tekstu oraz 48 pozycji piśmiennictwa w części opisowej poza publikacjami.

Doktorant za cel rozprawy przyjął: 1) zaproponowanie nowego podejścia do terapii nowotworów na przykładzie raka nerki, oraz 2) identyfikację nowych celów terapeutycznych dla leczenia raka nerki. Wybór tych tematów badawczych o dużym znaczeniu praktycznym uważam za sformułowany prawidłowo, trafny i nowatorski.

Podstawę ocenianej rozprawy doktorskiej stanowi cykl powiązanych tematycznie trzech publikacji – jednej przeglądowej i dwóch doświadczalnych, o bardzo wysokim jak na osiągnięcie naukowe tego typu (tj. rozprawę doktorską) sumarycznym współczynniku oddziaływania *Impact Factor* równym 13,714 i sumarycznej punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego równej 280 punktów. We wszystkich publikacjach Doktorant jest pierwszym i korespondencyjnym autorem.

1. **Kowalewski A**, Zdrenka M, Grzanka D, Szyłberg Ł. *Targeting the deterministic evolutionary trajectories of clear cell renal cell carcinoma*. *Cancers (Basel)*. 2020 Nov 9;12(11):3300.
2. **Kowalewski A**, Jaworski D, Antosik P, Smolińska M, Ligmanowska J, Grzanka D, Szyłberg Ł. *TRIP13 predicts poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma*. *Am J Cancer Res*. 2020 Sep 1;10(9):2909-2918.
3. **Kowalewski A**, Jaworski D, Antosik P, Smolińska M, Ligmanowska J, Grzanka D, Szyłberg Ł. *Overexpression of kif11 is a poor prognostic factor in clear cell renal cell carcinoma*. *Pol J Pathol*. 2022;73(2):82-87.

W publikacji „*Targeting the deterministic evolutionary trajectories of clear cell renal cell carcinoma*” Doktorant wraz ze współpracownikami przedstawił ścieżki ewolucyjne raka jasnokomórkowego nerki przekładające się na możliwe strategie terapeutyczne, omówił cztery grupy raków jasnokomórkowych nerki wyróżnione w oparciu o te ścieżki, potencjał przerzutowy i parametry molekularne. W artykule przedstawiono aktualne stosowane terapie oraz potencjalne, zaburzające ścieżki ewolucyjne raka, mające na celu maksymalne przedłużenie życia pacjentów z rozsianym nowotworem. Doktorant wraz z pozostałymi autorami analizuje ich podstawy molekularne odnosząc się również do aktualnych testów klinicznych I i II fazy. Najważniejszą częścią tego artykułu przeglądowego jest propozycja różnych strategii terapeutycznych celujących w cztery grupy raka jasnokomórkowego nerki różniące się ścieżkami ewolucyjnymi, które zostały omówione w treści publikacji oraz przedstawione w czytelnym zestawieniu tabelarycznym. Artykuł ten jest wstępem do dwóch pozostałych publikacji doświadczanych oraz moim zdaniem jest doskonałym ekwiwalentem „wstępu” w klasycznym ujęciu rozprawy doktorskiej.

Publikacje eksperymentalne „*TRIP13 predicts poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma*” oraz „*Overexpression of kif11 is a poor prognostic factor in clear cell renal cell carcinoma*” powstały w oparciu o materiał histopatologiczny w postaci macierzy tkankowych zakupionych od dostawcy komercyjnego. W każdym z powyższych artykułów Doktorant wraz ze współpracownikami oceniał ekspresję odpowiednio białka TRIP13 i kif11 wykrywanych za pomocą metod immunohistochemicznych. Obiektywizację oceny ekspresji białek dokonano wyliczając indeks H (*H-score*) w oparciu o analizę reakcji barwnej i odsetka komórek nowotworowych z różną jej intensywnością przeprowadzoną przez dwóch doświadczonych patomorfologów. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

Doktorant wykazał niższą cytoplazmatyczną ekspresję białka TRIP13 w komórkach raka niż w odpowiadających im komórkach kontrolnych. Jednocześnie komórki z wyższą jego ekspresją (*TRIP13-rich*) niż w komórkach kontrolnych cechowały się większą agresywnością przekładającą się na gorsze przeżycie pacjentów. Wydaje się to pewną sprzecznością. Doktorant w dość odważny, choć ostrożny w formie słownej, sposób sugeruje, iż białko TRIP13 może być odpowiedzialne za oporność raka nerki na terapie systemowe. W dalszej części publikacji Doktorant szeroko omawia rolę białka TRIP13 w karcynogenezie i potencjalne interakcje tego białka z innymi białkami w raku jasnokomórkowym nerki. Badania dotyczące białka kif11 przedstawione w trzeciej publikacji zachowują podobny schemat eksperymentalny. Doktorant wykazał również niższą ekspresję cytoplazmatyczną białka kif11 w komórkach raka w stosunku do kontroli, wykazał różnice w ekspresji tego białka w zależności od stopnia złośliwości histologicznej (wzrost ekspresji wraz ze wzrostem stopnia złośliwości histologicznej) i związek wysokiej ekspresji cytoplazmatycznej z gorszym przeżyciem pacjentów z rakiem nerki. Zatem również w przypadku białka kif11 populacja komórek o wyższej ekspresji (choć niższej niż w przypadku kontroli) jest bardziej agresywną.

Pomimo mojej pozytywnej oceny wyboru tematyki badań, stopnia zagłębienia się Doktoranta w zagadnienia ścieżek ewolucyjnych raka jasnokomórkowego nerki nie tylko na poziomie molekularnym, ale również klinicznym oraz rzetelnym przeprowadzeniu oceny ekspresji wybranych białek, mam drobne zastrzeżenia do całości pracy doktorskiej:

- Doktorant nie przedstawił zdjęć prezentujących intensywność reakcji immunohistochemicznych ekspresji badanych białek. Brakuje ich również w publikacjach. Jako patomorfolog uważam, że byłyby one dobrym wizualnym uzupełnieniem bardzo naukowej w formie dysertacji doktorskiej, szczególnie że różnice ekspresji np. białka kif11 w stosunku do stopnia złośliwości histologicznej pozwoliłyby na wybór odczynów różniących się jednoznacznie intensywnością reakcji barwnej,

- w świetle przedstawionych przez Doktoranta w publikacji przeglądowej czterech grup raka jasnokomórkowego nerki różniących się modelem zachowania i odpowiedzią na leczenie, ocena ekspresji badanych białek w macierzach tkankowych bez znajomości tychże podtypów może zafałszowywać interpretację uzyskanych wyników. Prawdopodobnie odniesienie oceny ekspresji badanych białek do poszczególnych grup ujawniłoby bardziej istotne różnice w parametrach kliniczno-patomorfologicznych. Doktorant deklaruje jednak chęć dalszych badań nad rozsianymi rakami nerki co w uzupełnieniu o powyższe dane może dostarczyć cennych informacji na temat badanych białek w tych właśnie grupach.

Moim zdaniem Doktorant zrealizował przedstawione w dysertacji cele, przy czym ocena ekspresji wybranych białek a rzeczywista identyfikacja ich jako celów terapeutycznych dla leczenia raka nerki jest nieco odległa i wymaga zapewne dalszych badań.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że lekarz Adam Kowalewski spełnił wszelkie wymogi formalne dla uzyskania stopnia naukowego doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu, a przygotowana przez Niego rozprawa oparta o zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych spełnia wymogi określone w art. 187 Ustawy z dnia 20.07.2018 r. – Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 oraz Dz.U. 2020 r., poz. 85, z późniejszymi zmianami). Założone cele, ich realizacja i uzyskane wyniki są spójne i przydatne z punktu widzenia poznawczego, dające podstawy do szerokiego, dalszego rozwinięcia poruszonej problematyki badawczej, również o charakterze translacyjnym. Doktorant udowodnił, że potrafi samodzielnie sformułować oryginalny problem naukowy i go rozwiązać. Potrafi również poddać krytycznej analizie uzyskane wyniki, przeprowadzić ich dyskusję w oparciu o wyniki innych grup badawczych oraz wyciągnąć, może nazbyt śmieie sformułowane, wnioski. **Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z wnioskiem o dopuszczenie lekarza Adama Kowalewskiego do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.** Jednocześnie wysoka, moim zdaniem, wartość artykułów naukowych Doktoranta odzwierciedlona m.in. wysoką punktacją *Impact Factor* (13,714) i punktacją MNiSW (280) uprawnia mnie do przedłożenia Wysokiej Radzie wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Adama Kowalewskiego *summa cum laude*.

dr hab. n. med. i n. o zdr. Marek Masiuk