

Bydgoszcz, 30.08.2023

Dr hab. Wojciech Bęth, prof. nzw
Klinika Neurochirurgii i Neurologii
Klinika Neurochirurgii
Szpital Uniwersytecki nr 2 im J. Bizuela

Magdalena Zduńska

**NACZYNIOWO-ŚRÓDBŁONKOWY CZYNNIK WZROSTU (VEGF-A) ORAZ JEGO
KRAŻĄCE RECEPTORY (sVEGFR1 I sVEGFR2) U CHORYCH Z GUZAMI
SRÓDCZASZKOWYMI**

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych
w dyscyplinie nauki medyczne

Angiogeneza jest nad wyraz fascynującym zjawiskiem w przyrodzie i biologii, a w szczególności w medycynie.

W onkologii rozwiązywanie sekretów angiogenezy staje się istotnym ramieniem do walki z nowotworami.

W dziedzinie moich kompetencji – neurochirurgii z kolei mozolne od lat mierzenie się z problemem przewlekłych krwiaków podtwardówkowych i neokapilarów w ich patogenezie w powiększającej się grupie osób w wieku podeszłym lub / i przyjmujących leczenie przeciwkrzepliwe to kolejne zagadnienie, które aż się prosi o radykalniejsze niż dotąd rozwiązanie kwestii licznych nawrotów w ich terapii. Próby z doświeceniem i tej tajemnicy są też podejmowane, jak choćby praca Weigela i wsp w J Neurotraumatology 2014.

W neuroonkologii zainteresowanie tematem naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu trwa od wielu lat, czego dowodem jest choćby częściowe zapewne podsumowanie dotychczasowych osiągnięć zawarte w przeglądowej pracy Macheina i wsp w 2000 w Journal of Neuroocology 2000.

To sprawiło, że z wielkim zainteresowaniem zaangażowałem się w analizę niniejszej dysertacji.

W konsekwencji kolejnych badań i publikacji widać wyraźnie, że temat podjęty przez Doktorantkę jest bardzo wieloczynnikowy i skomplikowany i wiele jeszcze jest w nim do ustalenia o czym świadczy i ta praca, która przypadł mi zaszczyt ocenić.

UKŁAD I KONSTRUKCJA PRACY

Przedstawiona do oceny rozprawa została zaprojektowana w tradycyjnym klasycznym układzie charakterystycznym dla prac naukowych w medycynie z właściwą – przejrzystą - strukturą podziału treści. Taka modelowa konstrukcja bardzo ułatwia szybkie i satysfakcjonujące zapoznanie się z nią i ocenę zarówno dla recenzenta jak i każdego czytelnika.

Praca doktorska liczy 119 zawierających treść ponumerowanych stron. Ostatnie przedstawiają kserokopie dokumentacji zgody Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badań niezbędnych do powstania rozprawy oraz wykaz tabel i rycin.

Treść pracy całkowicie odpowiada tematowi podanemu w tytule.

Praca prezentuje też ogólnie rozumianą w języku polskim, w którym jest napisana, poprawność formy i stosowanego języka, stylu i zasad interpunkcji.

WSTĘP

To klasyczny rozdział zawierający wprowadzenie w zagadnienia dysertacji. Można go z satysfakcją uznać za właściwy objętością w odniesieniu do całej objętości rozprawy (30/119). Korzyścią z wykorzystania objętości rozprawy jest to, że rozdział zaprojektowany w ten sposób, z użyciem metod graficznych, tabel i cytowanych klasyfikacji czy podziałów pozwolił Doktorantce szczegółowo i sumiennie omówić węzłowe zagadnienia analizowanego problemu. Mimo znacznego postępu wiedzy i doświadczeń praktycznych w omawianym przez Autorkę temacie, jak wspomniano, nie wszystkie kwestie są rozstrzygnięte. Stąd przyjęta sumiennie skala wprowadzenia – wstępu, jako służąca koniecznemu uszczegółowieniu tak ważnego tematu stała się niezbędna.

Na zwrócenie uwagi zasługuje fakt omówienia przez Doktorantkę w skromnym, ale szalenie istotnym ostatnim podrzdziale wprowadzenia zagadnienia terapii antyangiogennej. To jest istotne wkroczenie w rozważanie o przydatności klinicznej żmudnie wykonywanych badań na świecie. Dowód to choćby praca Kumthekara i wsp z 2022 w Neurooncol ADV o II fazie badań klinicznych nad skutecznością preparatu bevacizumab (BEV) zawierającego przeciwciała monoklonalne wiążące VEGF w leczeniu nawrotów oponiaków śródczaszkowych. Do tej grupy dołączają wyniki dociekań tej dysertacji.

Tworząc ten rozdział Doktorantka potwierdza posiadanie rzetelnej szczegółowej wiedzy teoretycznej dotyczącej dyscypliny, w której wykonuje działania badawcze oraz poddanych badaniom kwestii.

ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Doktorantka przyjęła za cel swoich badań i tu cytuje: „ocenę potencjału angiogennego na podstawie pomiaru stężenia VEGF-A oraz jego krążących receptorów w osoczu i tkance guza osób chorych na nowotwory śródczaszkowe”

Ogólny cel został wyrażony skrupulatnie - analitycznie i sformułowany treściowo jak najbardziej odpowiednio. Trzeba to uznać za dobrze przemyślane i zaprojektowane, a jednocześnie ambitne i odpowiadające – może niekoniecznie bezpośrednio - konkretnym potrzebom klinicznym.

Drobną wątpliwość budzi tu imiesłów „krążących” receptorów. Czy nie lepiej byłoby napisać „obecnych”, biorąc pod uwagę litą tkankę guza, gdzie krążenie trudno sobie wyobrazić fizycznie.

Cele szczegółowe natomiast Autorka przedstawiła konkretnie w czterech punktach, wzbudzając ogromne zainteresowanie każdego klinicysty zwłaszcza punktem 4., który pozwolę sobie zacytować, bo niesie on sobie duże potencjalnie wspomniane znaczenie kliniczne: „czy zastosowanie dwóch parametrów angiogenezy w postaci współczynników sVEGFR1/VEGF-A i sVEGFR2/VEGF-A pozwoli na pomiar potencjału angiogenego w poszczególnych typach nowotworów śródczaszkowych ?. Klinicystę aż niesie do odpowiedzi na pytanie, czy i jak to jest możliwe. I nie chodzi tu nawet o pomiar różnicujący grupy nowotworów w celu jak mniemam diagnostycznym, „markerowym” – to już nie jest konieczne – mamy doskonale obrazowanie i histologię z typowaniem molekularnym. Oznaczenie potencjału angiogenego w przypadku konkretnego pacjenta pozwoliłoby zróżnicować i zindywidualizować u niego terapię antyangiogeną, jaka by ona nie była w poziomie optymalnym. Pozostaje nam zarówno wierzyć, że w krótkim czasie taka terapia ta będzie znacznie efektywniejsza, ale i zdawać sobie sprawę z ogromu działań ubocznych, które będzie można ograniczyć minimalizując dawkę leku do najmniejszej skutecznej.

A więc taka perspektywa niesie klinicystę wprost do wniosków i tu zastaje pewien problem formalny, do którego odniosę się w analizie wniosków.

MATERIAŁ KLINICZNY I METODY BADAŃ

Doktorantka poddała badaniom próbki krwi i tkanki guza śródczaszkowego (pозyskane, jak rozumiem, podczas zabiegu usuwania zmiany równolegle z materiałem do badania histopatologicznego). pochodzące od 69 osób leczonych operacyjnie. Analiza histopatologiczna wykazała wśród nich 46 przypadków taktowanych jako złośliwe (HGG i meńta) v. 23 tak zwanych łagodnych (LGG i oponiaki). Przedstawiając grupę badaną Autorka z pewnością chciała umieścić w pracy zastrzeżenie, że u wszystkich badanych wykluczono współistnienie innych nowotworów (co się zdarza, niestety) posiadających potencjał angiogenezy. W grupie badanych z przerzutami z kolei

Doktorantka chciała zaznaczyć – odpowiednio – że ognisko pierwotne nowotworu było u nich wyleczone i nie było też przerzutów do węzłów chłonnych czy innych narządów, których aktywność mogłaby wpływać na zawartość VEGF we krwi.

Piszący tę recenzję jest klinicystą i odnośnie oznaczeń stężeń badanych parametrów angiogenezy może jedynie stwierdzić, że skoro odbywały się w tak renomowanym ośrodku jak Pracowni Zaburzeń Hemostazy Katedry Patofizjologii CM, to dobór takich właśnie znanych, sprawdzonych i porównywalnych narzędzi badawczych i metod należy uznać za całkowicie właściwy.

Analiza statystyczna^{^^}, przeprowadzona celem sprawdzenia istotności czy znamienności uzyskanych wyników została oparta wzorowo (po sprawdzeniu relacji zmiennych do rozkładu normalnego testem Shapiro-Wilka) na testach nieparametrycznych U-Manna-Whitney'a, Kruskala-Wallisa (ANOVA), Wilcoxon. Nieparametrycznych, gdyż w sposób niewątpliwy i świadomy rozkład badanej grupy nie mógł być rozkładem normalnym.

Zastosowanie tych ogólnie znanych, zweryfikowanych i szeroko stosowanych w statystyce badań medycznych testów pozwoliło, że uzyskane wyniki znamienności - istotności są w pełni porównywalne.

Przyjęty poziom istotności $p < 0.05$ odpowiada wymogom stawianym badaniom medycznym.

Przyjąłem zatem z zadowoleniem, że metodyka pracy została przygotowana stosownie i adekwatnie oraz przedstawiona szczegółowo i wyczerpująco, a Doktorantka zastosowała je odpowiednio-umiejętnie i kompetentnie

WYNIKI ^

Rozdział został napisany starannie, skrupulatnie i przekonywująco ze stosownym użyciem 16. estetycznych czytelnych tabel (od numeru 4 do 19) i 18. rycin – diagramów (nr 5 – 22), ze spodziewaną bezpośrednią interpretacją wyników, co daje możliwość dogłębnej indywidualnej analizy na podstawie przedstawionych danych. Z pracy widać, że zanika podtrzymywana latami tradycja numerowania tabel cyframi rzymskimi.

Rozdział prezentuje, wobec tego dokładnie wyniki badań i ich bezpośrednią interpretację w nawiązaniu do przyjętego celu pracy. Sposób przedstawienia świadczy o umiejętności interpretacji wyników i przekazywania ich do publikacji.

OMÓWIENIE

Jest stosownym szerokim, bo liczącym ponad 16 stron całkowicie i w pełni satysfakcjonująco wyczerpującym komentarzem do uzyskanych wyników z należyтым, wielokrotnym i oczekiwanym odwołaniem się do opinii na ten temat zawartych w światowym i polskim piśmiennictwie.

Zapoznanie się z nim ułatwia analizę wniosków, chociaż niekiedy zaznaczony nieco inny kąt sformułowań w różnych miejscach zmusza czytelnika do pewnego natężenia uwagi i elektronicznego wertowania tam i z powrotem, co nie jest absolutnie żadnym zarzutem, oczywiście.

Rozdział spełnia w zupełności wymogi odnoszące się do tej części rozprawy. ^

WNIOSKI

Ta część oceny dysertacji okazała się znacznie większym wyzwaniem dla recenzenta niż poprzednie. A to dlatego, że wykonane, omówione, poddane analizie i przedyskutowane badania upoważniły Doktorantkę do wyciągnięcia i przedstawienia 6. ponumerowanych wniosków, natomiast postawionych szczegółowych celów pracy jest 4. Jeśli odpowiedzią na ekscytujące pytanie - cel nr 4. o pomiarze potencjału angiogenego miałby być wniosek 4, to nie jest (cytuję: „obniżone stężenie sVEGFR2...”). Gdzie zatem szukać odpowiedzi? Wydawać by się mogło, że we wniosku nr 6. „ale jest on sformułowany tak, że odpowiedzi wprost „zero-jedynkowej” tam nie ma, a zawarta treść wymaga dodatkowych wyjaśnień.

Stąd, aby nie przedłużać rozważań nad tym podrozdziałem proponowałbym w wersji rozprawy doktorskiej przeznaczonej do szerszej publikacji przedstawić cele szczegółowe i wnioski w pełnej spójności ilościowej i jakościowej, co niewątpliwie ułatwi dokładne zrozumienie istoty tej cennej pracy, będzie w zgodzie z tym co naszemu pokoleniu wpajali nasi nauczyciele i życzliwością wobec czytelnika pragnącego z pełnym zrozumieniem zapoznać się z prezentacją.

Oczywiście po uważnym powtórny przeczytaniu celów i wniosków można przyjąć, że wnioski są co do zasady spójne z kolejnymi przedstawionymi celami pracy. ???

W ten sposób, poza niewielkimi zastrzeżeniami formalnymi założenia pracy zostały w ten sposób wykonane, a cel osiągnięty. Przedstawione wnioski są oryginalnym rozwiązaniem postawionego problemu badawczego. ^

STRESZCZENIE

Odpowiednio obszerne o objętości po półtorej strony po polsku i po angielsku oddaje w pełni treść pracy.

PIŚMIENNICTWO ^

Na piśmiennictwo niniejszej dysertacji składają się 202 prace opublikowane w latach 1981 – 2022 (w tym absolutnie aktualnych ogłoszonych od 2020 r - 6). Doniesienia polskich autorów, podkreślających nasz rodzimy wkład w zagadnienie stanowi 27 pozycji. Niebawem – mam nadzieję – do tej listy dołączymy odpowiednio przygotowaną niniejszą pozycję.

Publikacje zostały uszeregowane w kolejności cytowania, zgodnie z tematem i są w sposób oczywisty cytowane w dysertacji.

Szeroki zakres bibliografii i ilość pozycji świadczą bardzo dobrze o wnikliwości, sumienności i pracowitości Doktorantki w doborze źródeł i umiejętności ich odpowiedniego wykorzystania.

EWENTUALNE DOSTRZEŻONE USTERKI

W obszernej pracy naukowej, w której każdy autor zwraca się uwagę przede wszystkim na ścisłość merytoryczną sytego w treść tekstu zazwyczaj trudno ustrzec się różnych drobnych błędów i usterek zazwyczaj wynikających z intensywnej pracy twórczej, z posługiwaniem się przyjętymi na co dzień potocznymi skrótami myślowymi, które można przecież w następnej wersji pracy poprawić czy przerehabilitować. Niekiedy zastrzeżenia mają charakter kontrowersyjny wynikający z różnych punktów widzenia danego problemu.

Na tej zasadzie uznałbym za bardziej zasadne używanie w tekście terminu „badani” zamiast „chorzy”.

Doktorantka nie jest też klinicystą i usterki z tego obszaru proponuję potraktować jako wskazówki podczas przygotowania szerszej publikacji.

I tak na przykład w wersji publikacyjnej warto zmodyfikować tabelę 3 – charakterystyka nie ma charakteru klinicznego lecz histologiczno – lokalizacyjny. Pojęcie „międzynamiotowo” nie jest stosowane, prawdopodobnie chodzi o „międzypółkulowo”.

W obszernej i wyczerpującej dyskusji autorka nie powołując się na źródło stwierdza, że VGEF oprócz stymulacji angiogenezy bierze udział w tworzeniu obrzęku okołoguzowego, którego obecność znacznie pogarsza rokowanie i sprzyja nawrotom. Otóż sprawa jest bardziej skomplikowana z klinicznego punktu widzenia; angiogeneza bywa skrajnie różna w różnych „podtypach” oponiaków (oponiak piaszczakowaty v. naczyńiowy). Oponiak jak mało który inny guz często nie daje obrzęku w ogóle trwając w „uśpieniu” całymi latami. Ale czy coś stoi na przeszkodzie, aby temat osi angiogeneza – oponiaki poddać bardziej szczegółowej analizie badawczej w przyszłości? Można tu iść śladem polskich autorów z Białegostoku, Reszec i wsp., którzy w Biomed Res w 2015 r. opublikowali po angielsku wprawdzie pracę w tym temacie,

Nie ma co rozwijać dalej tej części oceny reasumując, że w ocenianej dysertacji piszący recenzję absolutnie nie dopatrył się jednak żadnych znaczących czy istotnych czy rażących pomyłek, które wpływałyby istotnie na jej treść.

PODSUMOWANIE

Podane w ocenie pracy usterki, uchybienia czy zastrzeżenia mają wszakże charakter czysto formalny i nie umniejszają w żaden sposób merytorycznej wysokiej wartości ocenianej rozprawy. Dysertacja wnosi cenny i oryginalny wkład udokumentowanej własnymi badaniami wiedzy na temat

Uzyskane wyniki mają niewątpliwie znaczenie dla nauki, a czy mogą też mieć znaczenia kliniczne? Rodzi się tu pytanie do Doktorantki, czy temat uważa za zamknięty, czy też widzi możliwości dalszych badań u podstaw, tworząc fundamenty do skutecznych działań klinicznych. Jeden z przykładów został podany powyżej.[^]

Nie ulega wątpliwości, że zgodnie z nowelizowanymi przepisami o stopniach naukowych i tytułach naukowych przedstawiona recenzentowi do oceny rozprawa, jest oryginalnym, unikalnym rozwiązaniem istniejącego problemu naukowego (to jest udowodnione wnioskami), a Doktorantka wykazała się odpowiednią rzetelną wiedzą teoretyczną, umiejętnościami i kompetencjami w danej dyscyplinie (to jest szczególnie argumentowane we wstępie) oraz zdobyła i posiada umiejętność i biegłość w samodzielnym prowadzeniu badań naukowych.

Wiemy, że, rozprawa doktorska wykazać rzetelną wiedzę teoretyczną Kandydata (tu Kandydatki) w danej dyscyplinie (co Doktorantka argumentowała we wstępie), udowodnić umiejętność prowadzenia samodzielnej pracy badawczej (co piszący już wcześniej zaznaczył) oraz stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (co jest umotywowane we wnioskach).

Tworząc zaś całą pracę Doktorantka bez wątpienia zdobyła, ukształtowała i wykazała wspomnianą umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy badawczej

Oceniana tu rozprawa doktorska nie tylko spełnia odpowiednie wymagania, ale jest też obiecującą prognozą dalszego rozwoju naukowego Doktorantki w przyszłości.

Wobec tego zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne z wnioskiem o dopuszczenie Doktorantki do dalszych przewidzianych i wymaganych prawem etapów przewodu doktorskiego z nadaniem stopnia doktora włącznie.

Wojciech Beuth

