

UNIwersyTET MEDYcZNY W ŁODZI

I Katedra Ginekologii i Położnictwa Klinika Patologii Ciąży

ul. Wileńska 37, 94-029 Łódź, tel. fax. (48) (42) 687-84-97

prof. dr hab. med. Agata Karowicz-Bilińska.

Ocena rozprawy doktorskiej lekarz Pauliny Banach

pt.: „ Strategie proteomiczne w diagnostyce rozrostów i nowotworów trofoblastu ”

Zmiany zachodzące w proteomie związane z obecnością rozrostów i nowotworów trofoblastu są bardzo ciekawym i trudnym zagadnieniem, którego wyjaśnienia podjęła się Doktorantka. Rozrosty i nowotwory trofoblastu stanowią ważny problem diagnostyczno-leczniczy dotyczący kobiet w wieku rozrodczym, występując z częstością od około 0,6 do 1,1 na 1000 ciąż. Precyzyjna diagnostyka i wcześnie podjęcie leczenia warunkuje właściwe, a zatem skuteczniejsze postępowanie.

Przedstawiona mi od oceny rozprawa doktorska składa się z cyklu czterech publikacji: pracy podglądowej oraz trzech prac oryginalnych o ogólnej punktacji wynoszącej 70 punktów MNiSW oraz 7,312 IF. W moim mniemaniu jest to punktacja w pełni wystarczająca dla uznania ją za odpowiednią dla rozprawy doktorskiej.

Doktorantka jest pierwszą autorką wszystkich tych publikacji, co dowodzi jej wiodącego wkładu w ich powstanie. Wszystkie publikacje zostały napisane w języku angielskim i w tej formie, poprzedzonej krótkim wstępem w języku polskim i angielskim, przedstawione jako rozprawa doktorska.

Streszczenie, poprzedzające publikacje, wprowadza czytelnika w zagadnienie rozrostów i nowotworów trofoblastu. Doktorantka w sposób syntetyczny omawia rodzaje patologii trofoblastu, częstość ich występowania, czynniki ryzyka oraz objawy towarzyszące tej patologii. Autorka zwraca uwagę na wczesne rozpoznanie rozrostu lub nowotworu trofoblastu jako czynnik wpływający na skuteczność podjętego leczenia. Omawia procedury diagnostyczne oraz sposoby leczenia w aspekcie ich skuteczności oraz możliwości niepowodzeń terapeutycznych, na przykładzie powstawania lekooporności podczas systemowego leczenia nowotworu trofoblastu. Cenne jest omówienie w tym miejscu oceny

czynników ryzyka oporności na leczenie metotreksatem oraz terapię wielolekową. W konkluzji tej części pracy Autorka tłumaczy, dlaczego podjęła się tego tematu badawczego wykorzystując metodę spektrometryczną mas oraz badania immunologiczne w poszukiwaniu markerów przydatnych w diagnostyce nowotworów trofoblastu.

Celem rozprawy jest analiza profili proteomicznych, badanych w surowicy krwi i w moczu kobiet z rozpoznanymi rozrostami i nowotworem trofoblastu, z uwzględnieniem przydatności profilu nowotworowego Bio-Plex, analizy profilu proteinowo-peptydowego oraz znaczenia stężenia beta-hCG dla oceny ryzyka lekooporności u kobiet leczonych z powodu nowotworu trofoblastu.

Aby ułatwić czytelnikowi zrozumienie zamieszczonych publikacji Doktorantka zapoznaje skrótowo we wstępie z zebrany w poszczególnych pracach materiałem oraz metodami badania, a następnie przedstawia uzyskane z tych badań wyniki. Na końcu części poprzedzającej publikacje przedstawia wnioski wynikające z przeprowadzonych badań.

Pierwsza z ocenianych publikacji "Mass spectrometry as a tool for biomarkers searching in gynecological oncology", będąca pracą poglądową, omawia przydatność spektrometrii mas jako nowej metody diagnostycznej w onkologii. We wstępie Autorzy omawiają zagadnienie genomiki jako narzędzia służącego poznawaniu kodu genetycznego oraz związanych z nim innych gałęzi nauki służących poznaniu interakcji zachodzących w organizmie. Zwracają również uwagę na nowe narzędzie diagnostyczne, jakim jest spektrometria mas opierająca się na ocenie stosunku masy do ładunku i obrazowaniu za pomocą widma masowego. Metoda ta z powodzeniem służy ocenie zachowania się białek organizmu na skutek działania czynników zewnętrznych i wewnętrznych. Następnie omówione zostaje zastosowanie tej technologii w medycynie oraz trudności związane z jej zastosowaniem w ocenie dużych białek. Jednocześnie Autorzy wskazują na duże możliwości oceniania białek i peptydów tą metodą we krwi oraz w moczu. W kolejnych częściach publikacji omówiono zastosowanie spektrometrii masowej w przypadku raka jajnika, raka endometrium, raka szyjki macicy, raka sromu oraz ciąży choroba trofoblastycznej i raka trofoblastu. Zwracają też uwagę na obecność specyficznej glikolizacji protein u kobiet z rakiem jajnika, obecność specyficznego białka aneksyny A2 u kobiet z nawrotową postacią raka endometrium oraz obecność aż dziewięciu potencjalnych białkowych markerów charakterystycznych dla występowania tego nowotworu. W ocenie przydatności spektrometrii mas u kobiet z rakiem szyjki macicy wskazują na przydatność oceny białka szoku termicznego HSP 70 dla wykrycia osób potencjalnie opornych na leczenie cisplatyną. Przydatność tej metody w przypadku raka sromu związana jest z wykryciem zależności między czterema oznaczanymi białkami, a opornością na leczenie. W przypadku raka piersi

Doktorantka zwraca uwagę na pionierskie odkrycie obecności białek przydatnych w diagnostyce tego nowotworu we łzach, co pozwala na zupełnie bezinwazyjną diagnostykę. Podkreśla, że obecność czterech proteinowych markerów pozwala na uzyskanie ponad 90% trafności rozpoznania raka piersi.

W końcowej części pracy poświęconej ciąży chorobie trofoblastycznej Doktorantka wskazuje na obecność trzech polipeptydów mogących odróżnić prawidłowe komórki trofoblastu od nieprawidłowych, zaś inne badania potwierdzają obecność wysokiej ekspresji 11 protein w nowotworach wywodzących się z trofoblastu, które mogą być potencjalnie przydatne w diagnostyce tej choroby. Przedstawiono również marker CLIC1 [chloride intracellular channel protein-1] jako wysokospecyficzny w przewidywaniu transformacji zwyrodnienia zaściadowego w raka kosmówki.

Drugą pracą, tym razem oryginalną jest „Serum angiogenesis profile in gestational trophoblastic neoplasma using multiplex immunoassay”. W pracy przeanalizowano 21 przypadków nowotworu złośliwego trofoblastu stosując panel markerów nowotworowych Bio-Plex oceniający czynniki proangiogenne. Uzyskane wyniki porównano z grupą kontrolną 21 zdrowych kobiet ciężarnych będących w pierwszym trymestrze prawidłowej ciąży. Spośród szesnastu oznaczanych czynników proangiogennych, trzy z nich- białko sTIE-2, sIL-R6 alfa oraz osteopontyna wykazały istotną różnicę stężeń we krwi kobiet w porównywanych grupach. Wykazano istotny wzrost białka sTIE-2, sIL-R6 alfa oraz spadek osteopontyny, co sugeruje ich przydatność w diagnozowaniu nowotworów trofoblastu.

Kolejna publikacja “MADI-TOF-MS analysis in the identification of urine proteomic patterns of gestational trophoblastic disease „, ocenia profil proteinowo-peptydowego w moczu wykonano w grupie kobiet z nowotworem złośliwym trofoblastu, liczącej 26 pacjentek. Badanie wykonano dwukrotnie przed i po leczeniu oraz jako grupie porównawczej- u 17 zdrowych kobiet w tym 9 ciężarnych. Wykonana została również analiza refraktometryczna moczu, a następnie badanie techniką spektrometrii mas z jonizacją laserową wspomaganą matrycą z detektorem czasu przelotu [MALDI-TOF-MS]. Uzyskano istotną różnicę między pacjentkami przez leczeniem nowotworu, a grupą zdrowych kobiet ciężarnych w zakresie alfa-hemoglobiny oraz białka komplementu C4A, wskazując na możliwość wykorzystania tych markerów jako przydatnych w diagnostyce nowotworów złośliwych trofoblastu. Wykazanie istotnie wyższych wartości badania uromoduliny u pacjentek po leczeniu nowotworu w porównaniu do grupy zdrowych nieciążarnych zdaniem Doktorantki może być jedynie efektem przebytej przez pacjentki chemioterapii. Podobną zależność stwierdzono w odniesieniu do białka komplementu C4A, co może z kolei wskazywać zdaniem Doktorantki na

immunostymulację ustroju w przebiegu choroby trofoblastycznej. W podsumowaniu stwierdzono, że ze względu na niewielką liczbę przypadków konieczna jest kontynuacja badań dla lepszego zrozumienia tych zjawisk.

Ostatnia z cyklu prac- „The value of an initial drop of Human Chorionic Gonadotropin levels in predicting a response to methotrexate in women with low-risk Gestational Trophoblastic Neoplasia” jest retrospektywną oceną wartości stężeń beta-hCG w grupie 46 kobiet leczonych z powodu nowotworu złośliwego trofoblastu, zakwalifikowanych jako pacjentki niskiego ryzyka oporności na metotreksat. Ocenie poddano różnice wartości hCG w zależności od wystąpienia lekooporności, co pozwoliło określić wartość wyjściowego stężenia hCG oraz wartość procentową jej spadku po pierwszym kursie terapii metotreksatem, korelującą z wystąpieniem oporności na leczenie. Ta obserwacja ma ogromne znaczenie dla zaplanowania właściwego sposobu leczenia, co pozwoli na uniknięcie lekooporności na monoterapię metotreksatem i wprowadzenie od razu bardziej skutecznej terapii wielolekowej.

Doktorantka za cel pracy postawiła sobie analizę profili proteomicznych kobiet z nowotworem trofoblastu i ten cel w pełni zrealizowała oceniając zmiany zarówno we krwi jak i w moczu chorych kobiet. Z powziętych trzech celów szczegółowych Doktorantka również w pełni je zrealizowała- pierwszy dotyczący przydatności panelu Bio-Plex w diagnostyce nowotworów trofoblastu, wykazując specyficzność tego narzędzia w zakresie oceny niektórych czynników angiogennych w grupie chorych kobiet, co stanowi treść pierwszej z prac oryginalnych. Drugi cel- analiza profilu proteinowo-peptydowego u kobiet z nowotworem trofoblastu za pomocą badania moczu zaprezentowany został w kolejnej publikacji, a ostatni oceniający wartości stężenia β -hCG w predykcji wystąpienia oporności na monoterapię metotreksatem zamyka cykl publikacji.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska złożona jest z czterech prac, z czego jedna jest pracą przeglądową analizującą przydatność spektroskopii mas w ginekologii onkologicznej. Wprowadza ona czytelnika w to zagadnienie, choć jak wynika z treści, najbardziej interesujący Doktorantkę temat przydatności tej techniki w odniesieniu do nowotworu trofoblastu, stanowi najkrócej opisane zagadnienie. Budzi to niedosyt, choć oczywiście można to wytłumaczyć niewielką liczbą dotychczasowych publikacji zajmujących się tym zagadnieniem.

Pozostałe prace stanowiące dysertację są ściśle ze sobą powiązane tematem badawczym i zrealizowane zostały z użyciem nowoczesnych metod badawczych. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki wnoszą niezaprzeczalnie duży wkład w rozwój wiedzy na temat biologii nowotworu trofoblastu oraz mogą znaleźć zastosowanie w praktyce diagnostycznej i leczniczej. Niewielka grupa badanych kobiet z nowotworem trofoblastu wynika z rzadkości tej choroby,

co Doktorantka sama umieszcza we wniosku pracy „Serum angiogenesis profile in gestational trophoblastic neoplasma using multiplex immunoassay”, wskazując na konieczność potwierdzenia wyników na większej grupie pacjentek.

Prace tworzące rozprawę doktorską lekarz Pauliny Banach posiadają wartość poznawczą oraz praktyczną dla lekarzy ginekologów i ginekologów-onkologów, wykonane zostały z należytą starannością, czego dowodem jest opublikowanie ich w wysoko punktowanych czasopismach specjalistycznych.

Układ pracy jest nowatorski, gdyż składa się z powiązanych tematycznie publikacji. Opracowanie wyników badań przekonuje o wnikliwości w analizowaniu przeprowadzonych badań, a metody oceny statystycznej są odpowiednio dobrane do liczebności badanych grup. Analiza załączonych oświadczeń współautorów prac w liczbie dwunastu, w których jedenaścioro podaje iż współtworzyło manuskrypt, a siedmioro zbierało dane, wymaga wyjaśnienia, w jakim stopniu to miało miejsce, gdyż rozprawa doktorska winna opierać się na samodzielności doktoranta, a jego wkład w powstawanie tych publikacji powinien być znaczący. Uzupełnienie dołączonych do rozprawy oświadczeń procentowym udziałem w poszczególnych elementach pracy rozwiałoby wszelkie mogące powstać wątpliwości.

Te zastrzeżenia nie umniejszają w żaden sposób wartości merytorycznej rozprawy.

Podsumowując stwierdzam, że zarówno dobór tematu stanowiącego istotny kliniczny problem diagnostyczno-leczniczy, jak i wartość merytoryczna przedstawionych publikacji i ich nowatorski charakter oceniam bardzo wysoko gratulując zarówno Doktorantce, jak i Promotorowi.

Stwierdzam więc, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ustępl ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65,poz595 z późn. zm).

Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Pierwszego Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o skierowanie rozprawy doktorskiej lekarz Pauliny Banach do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Agata Karowicz-Bilińska

Łódź. 27 maja 2019.

