

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. med. Elżbiety Ostańskiej

pt.: „Ocena przydatności chemioterapii raka piersi z zastosowaniem czasów relaksacji rezonansu magnetycznego i metody fotodynamicznej”

która została wykonana pod kierunkiem

dr hab. n. med. inż. Doroty Bartusik-Aebisher, prof. UR

Wczesna diagnostyka i wykrycie raka piersi, będącego najczęściej rozpoznawanym nowotworem na świecie, bezpośrednio przekłada się na zmniejszenie śmiertelności związanej z tą chorobą. Wczesne wykrycie raka piersi jest zależne od różnego rodzaju interwencji interdyscyplinarnych, polegających głównie na zaawansowanych technikach obrazowania. Pełna i wiarygodna diagnostyka raka piersi oparta jest na komplementarności kolejnych etapów diagnostycznych i poszczególnych technik diagnostycznych. Obecnie do wykrycia raka piersi wykorzystywane jest obrazowanie za pomocą ultrasonografii, badania mammograficznego oraz obrazowania za pomocą rezonansu magnetycznego. Przy czym decyzje terapeutyczne podejmowane są na podstawie potwierdzających wyników diagnostyki histopatologicznej i cytologicznej guza bądź regionalnych węzłów chłonnych. Diagnostyka patomorfologiczna należy do metod inwazyjnych, zakłada pobranie materiału do badań z koniecznością przerwania ciągłości tkanek. Mimo ogromnego postępu diagnostyki raka piersi nadal spory margines niepewności pojawia się w przypadku drobnych ognisk raka i zmian wielogniskowych, które trudno odróżnić od okalającej tkanki prawidłowej. Badania nakierowane na opracowanie wczesnej, odpowiednio czulej i swoistej metody diagnostycznej raka piersi, umożliwiającej jak najwcześniejsze wykrycie zmian nowotworowych, zarówno pierwotnych jak i pozostałych po terapii resztek wcześniejszych zmian, mogących być przyczyną wznowy choroby, wpisuje się w aktualne trendy badawcze a jednocześnie stanowi ogromne wyzwanie naukowe. Wobec powyższego przedstawiona do recenzji praca doktorska podejmuje oryginalny problem

badawczy, bardzo aktualny i naglący, zarówno z poznawczego jak i praktycznego punktu widzenia.

Rozprawa doktorska Pani lek. med. Elżbiety Ostańskiej stanowi zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie trzech artykułów naukowych, które ukazały się na łamach czasopism naukowych należących do listy JCR (ang. *Journal Citation Reports*). Łączny współczynnik oddziaływania tych prac jest wysoki i wynosi 9,289 punktów. Artykuły są zauważone przez międzynarodowe środowisko naukowe, co potwierdzone jest w bazie *Web of Science* liczbą cytowań, wynoszącą 19 w dniu pisania recenzji (26 września 2022r.).

Doktorantka ujęła podstawowy cel pracy dysertacji i istotę przeprowadzonych eksperymentów w dobrze postawionym pytaniu badawczym: „Czy niejednorodność zmian po chemioterapii w tkankach nowotworu widoczna w obrazie histopatologicznym jest możliwa do oceny za pomocą rezonansu magnetycznego i metody fotodynamicznej oraz czy reakcja fotodynamiczna niszczy komórki raka i jak wpływa na komórki zdrowe”.

Wprowadzenie do odpowiedzi na to pytanie zostało przedstawione w **pierwszej publikacji**, która zaliczana jest do prac przeglądowych. W tej części dysertacji Doktorantka opisała obecny stan wiedzy dotyczący możliwości terapii fotodynamicznej pod kątem terapii raka piersi. Jest to bardzo dobre wprowadzenie i przygotowanie czytelnika do części eksperymentalnej pracy, zawartej w kolejnych artykułach naukowych. W artykule przeglądowym Pani lek. med. Elżbieta Ostańska opisała w przystępny sposób zasady działania i przykłady zastosowania terapii fotodynamicznej, głównie *in vitro*, z przytoczeniem najczęściej stosowanych w badaniach substancji fotouczulających, ich stosowanych stężeń i długości fali światła niezbędnej do ich wzbudzenia. W pracy Doktorantka podaje też najnowsze testowane pomysły łącznego stosowania terapii fotouczulającej z innymi rozwiązaniami, jak np. z immunoterapią. Za bardzo wartościowy uważam drugi rozdział tego artykułu, gdzie znajdują się propozycje nowych metod zwiększających selektywność i biodostępność związków fotouczulających. Zawarte w nim są cenne krytyczne uwagi i wymagania, które muszą być spełnione dla celowej efektywności tych substancji. Pracę zamyka rozdział wskazujący na rodzące się możliwości tej terapii w raku piersi i wskazuje

zalety i wady tego podejścia diagnostyczno-terapeutycznego. Całość artykułu prezentuje szeroką wiedzę teoretyczną Doktorantki, Jej krytyczne podejście i kompetentne przygotowanie do prac eksperymentalnych.

W kolejnych **dwóch pracach** Pani lek. med. Elżbieta Ostańska wraz ze Współautorami, opublikowała wyniki prac doświadczalnych, prowadzonych na przełomie lat 2019-2021, czyli w czasie niezwykle trudnym do prowadzenia badań eksperymentalnych, w tak dużym stopniu związanych z kliniką. Wyniki tych badań uważam za główne osiągnięcie pracy doktorskiej, czyli wskazanie na podstawie danych przedklinicznych, że dodanie adjuwantowej terapii fotodynamicznej do chemioterapii przeciwnowotworowej, przyczynia się do zwiększonej destrukcji komórek rakowych, co potwierdzone zostało badaniami histopatologicznymi. Zostało to udowodnione z wykorzystaniem rózu bengalskiego, fotouczulacza aplikowanego w trzech różnych stężeniach na próbki tkanek pochodzących z piersi. W eksperymencie zaobserwowano rosnący efekt destrukcji tkanek wraz ze wzrostem stężenia substancji fotouczulającej. W **trzeciej pracy** pobrane od pacjentek po chemioterapii próbki tkanek z gruczołu piersiowego poddawane były dodatkowo obrazowaniu rezonansem magnetycznym. Dzięki temu możliwa była ocena różnic w czasach relaksacji jąder protonu spin-sieć (T_1) pomiędzy wynikami uzyskanymi dla tkanki zdrowej i tkanki chorej w pobranych próbkach. Innymi słowy, potwierdzona została możliwość oceny za pomocą rezonansu magnetycznego niejednorodności zmian po chemioterapii w tkankach nowotworowych vs tkanki zdrowe, zmian widocznych w obrazie histopatologicznym. Dodatkowo, część próbek poddanych było terapii fotouczulającej z zastosowaniem rózu bengalskiego, oraz ponownej ocenie z zastosowaniem rezonansu magnetycznego. Próbki poddawane były kontrolnej ocenie histopatologicznej z zastosowaniem rutynowej procedury. W tej pracy z kolei, Doktorantka dowiodła, że silniejszy efekt przeciwnowotworowy można zaobserwować, gdy fototerapia połączona jest ze skuteczną chemioterapią, skutkującą większymi zmianami w obrębie komórek nowotworowych. Takie połączenie ostatecznie silniej ukierunkowuje ogniska nowotworowe w stronę śmierci komórkowej np. poprzez apoptozę.

Lektura przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej, mimo wcześniejszych recenzji wynikających z procesu publikacyjnego, nasuwa kilka pytań czy uwag. Przedstawiłam je w punktach do dyskusji.

1. W drugiej publikacji w ramach cyklu przedstawionych w dysertacji artykułów naukowych, brakuje bardziej szczegółowej charakterystyki pacjentów włączonych do badania, od których pobierane były tkanki gruczołu piersiowego. Czy była to grupa demograficznie jednorodna? Jak rozumiem włączonych do badania było 48 kobiet, w większości po podaniu tego samego rodzaju chemioterapii. Wszystkie pacjentki przeszły standardowe 4 cykle chemioterapii a dwie pacjentki dodatkową terapię celowaną. Dwie próbki, dwóch pacjentów to niewiele dla wyciągnięcia wniosków, ale czy w tym drugim przypadku była różna odpowiedź na stosowaną fototerapię *in vitro* w porównaniu z próbkami tkankowymi pochodzącymi od pacjentek, które przeszły standardowy cykl chemioterapii?

2. W trzeciej publikacji również poskąpiono szerszej informacji dotyczącej grupy badanych pacjentek. Nie znalazłam też informacji na temat aplikowanej chemioterapii neoadjuwantowej. Pewne niezrozumienie budzi również podanie w Tabeli 1 wyników dla sześciu spośród 18 próbek, odzwierciedlających największe różnice w czasie relaksacji jąder protonu spin-sieć (T_1). Wydaje się, że należałoby podać powód takiego doboru danych.

3. Kilka uwag od strony edytorskiej. Rozprawa doktorska jest napisana poprawnym językiem naukowym, nie zauważyłam zwrotów żargonowych. Wkradło się natomiast kilka powtórzeń, niezrozumiałych zwrotów czy niejasnych zdań, jak np.: „Schemat działania PDT polega na podaży fotouczulacza do chorej tkanki, a następnie naświetlanie obszaru światłem o odpowiedniej absorpcji do rodzaju tkanek” (str. 50), czy „Osiemnaście przypadków inwazyjnego raka piersi po leczeniu zostało zbadanych przedoperacyjną chemioterapią” (str. 52). W pracy znalazłam też dość swobodne podejście do zapisu substancji leczniczych, np. „docetaksel” pisany był na trzy różne sposoby (str. 24). Jak rozumiem, wynikało to z pośpiechu niezmiennie nam towarzyszącego w ostatnim czasie.

4. Szkoda, że w dysertacji nie dodano spisu skrótów, które ułatwiłyby lekturę pracy ze skomplikowanego obszaru badań naukowych.

Podsumowując stwierdzam, że odpowiedź na trafnie zadane pytanie badawcze: „Czy niejednorodność zmian po chemioterapii w tkankach nowotworu widoczna w obrazie histopatologicznym jest możliwa do oceny za pomocą rezonansu magnetycznego i metody fotodynamicznej oraz czy reakcja fotodynamiczna niszczy komórki raka i jak wpływa na komórki zdrowe” została przez Doktorantkę udzielona i podana została na korzyść zarówno obrazowania za pomocą rezonansu magnetycznego jak i metody fotodynamicznej. W tym miejscu należy dodać, że badania na pewno należy kontynuować i życzyć, żeby w niedalekiej przyszłości wyniki rozprawy doktorskiej mogły posłużyć do zastosowania techniki PDT w raku piersi *in vivo*.

Rozprawę doktorską autorstwa Pani lek. med. Elżbiety Ostańskiej oceniam bardzo wysoko. Dysertacja stanowi opracowanie wartościowe zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia. Stwierdzam, że w pełni odpowiada ona warunkom formalnym i merytorycznym stawianym rozprawom doktorskim zawartym w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – *Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce* i wnoszę do Rady Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie Pani lek. med. Elżbiety Ostańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie, ze względu na oryginalne podejście naukowe, wysoki sumaryczny współczynnik oddziaływania wynikający z opublikowania wyników pracy w czasopismach naukowych o ogólnoświatowym zasięgu, wnoszę do Rady Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani lek. med. Elżbiety Ostańskiej.

Gdańsk, 26 września 2022 r.

p.o. KIEROWNIK KATEDRY
Biofarmacji i Farmakodynamiki

dr hab. Danuta Siluk, prof. uczelni