

**Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych  
lekarza Angeliki Stapińskiej-Syniec**

***„Korelacja pomiędzy stopniem hydroksymetylacji a złośliwością  
glejopochodnych guzów ośrodkowego układu nerwowego w odniesieniu do  
przebiegu klinicznego operowanych chorych.”***

Markery genetyczne mają obecnie kluczowe znaczenie w diagnostyce glejopochodnych guzów ośrodkowego układu nerwowego. Klasyfikacje guzów układu nerwowego WHO z 2016 i 2021 uwzględniają poza wynikiem badania histopatologicznego markery molekularne i genetyczne. Za zmianami w klasyfikacji nowotworów OUN nie poszły zmiany schematu leczenia. Ma ona w tej chwili wyłącznie znaczenie rokownicze tzn. lepiej pozwala przewidzieć czas przeżycia do wznowy oraz czas całkowitego przeżycia pacjentów w oparciu o nową klasyfikację nowotworów. Mamy jednak nadzieje, że bardzo intensywne badania nad terapiami genetycznymi oraz immunologicznymi doprowadzą do poprawienia wyników leczenia i zmiany niekorzystnego rokowania w glejakach. Dlatego wszystkie badania, które pozwolą lepiej poznać genetykę i zmiany molekularne tych guzów mogą być niezwykle istotne i przyczynić się do rozwiązania tego niezwykle trudnego problemu. Praca lekarz Angeliki

Stapińskiej- Syniec wpisuje się w te kierunki badań w neuroonkologii. Praca ta mogła powstać w ośrodku, który ma bardzo dobrą współpracę neurochirurgów i genetyków.

Rozprawa liczy 90 stron zawiera 24 ryciny i 9 tabel. Układ pracy jest typowy dla pracy badawczej. Składa się ze wstępu, założeń i celów prac, materiałów metodyki, wyników, dyskusji, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwa. Zawiera również spis rycin tabel i załączników razem 121 stron.

We wstępie autorka przedstawia epidemiologię i patomorfologię wraz z klasyfikacją nowotworów OUN. Część wstępu: „Hydroksymetylacja guzów glejopochodnych” uzasadnia dlaczego doktorantka zainteresowała się znaczeniem hydroksymetylacji w glejakach czyli uzasadnia cel badań. W części „Nowe kierunki leczenia guzów glejopochodnych (leczenie molekularne i genetyczne)” oraz „Inne nowatorskie formy leczenia guzów glejopochodnych” autorka pomija zupełnie leczenie zmiennym polem elektrycznym (TTF). Jest to terapia zaaprobowana przez FDA jako jedyna w leczeniu glejaków, od czasu zaaprobowania Temodalu. Nawet jeżeli to leczenie nie jest finansowane w Polsce przez NFZ to jest to standard postępowania w wielu krajach świata. W U.S.A., Niemczech, Szwajcarii, Kanadzie i w wielu innych krajach jest to leczenie, które finansuje ubezpieczyciel. Wielu pacjentów w Polsce dopytuje się o skuteczność tego leczenia i możliwość zastosowania go w Polsce. Wypadałoby, żeby doktorantka, która w swojej dysertacji umieszcza podrozdziały „Nowe kierunki leczenia guzów glejopochodnych” oraz „Inne nowatorskie formy leczenia guzów glejopochodnych”, napisała chociaż kilkanaście zdań o tej metodzie. Miałbym wtedy wrażenie, że leczenie nowotworów glejopochodnych guzów jest doktorantce znane. Zresztą szczupłość tych podrozdziałów (oba razem zajmują zaledwie niecałe dwie strony) jest niezwykle zaskakująca wobec olbrzymiej ilości programów badawczych I, II, III fazy dotyczących chociażby

leczenia genetycznego, immunologicznego i przełamaniu bariery krew- mózg co ma znacznie poprawić skuteczność chemioterapii. Gdyby w tej części rozprawy doktorskiej znalazło się znacznie bardziej wyczerpujące przedstawienie aktualnie prowadzonych badań nad leczeniem guzów glejopochodnych miałbym większą pewność, że doktorantka wie dlaczego wykonywała te badania.

Rozdział założenia i cele pracy doktorskiej jest bardzo zdawkowy. Zbudowany z dwóch zdań. Brakuje mi hipotez badawczych. Gdyby ten rozdział zawierał bardziej precyzyjne informację dotyczące celów badawczych to miałbym wrażenie, że praca jest dobrze przemyślana i zaplanowana.

Rozdział materiał i metodyka jest najbardziej rozbudowany w części pobieranie materiałów podczas operacji oraz pobieranie materiałów podczas biopsji stereotaktycznej. Brak wydzielonego podrozdziału: „Analiza statystyczna”, chociaż doktorantka wymienia w pięciu liniijkach testy statystyczne, które zostały wykorzystane do analizy uzyskanych wyników, rodzaj oprogramowania oraz granice poziomu istotności statystycznej. Użyte testy są uznane i szeroko stosowane w analizie statystycznej wyników uzyskanych w badaniach medycznych.

Doktoranta oceniała grupę 40 pacjentów z guzami mózgu operowanych w Klinice Neurochirurgii Instytutu Psychiatrii i Neurologii w latach 2018-2020. Każdy z pacjentów wyraził świadomą zgodę na uczestnictwo w badaniu, a badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego. Badania miało charakter prospektywny. Retrospektywna była jedynie analiza dokumentacji medycznej dotyczącego stanu neurologicznego pacjenta przed i po operacji, danych demograficznych lokalizacji guza i rodzaju operacji. W czasie operacji pobierano próbki guza:

1. celem badania histopatologicznego,

2. celem analizy molekularnej stopnia hydroksymetylacji oraz ekspresji genów TET.

Pobierano również próbkę krwi obwodowej pacjenta celem analizy molekularnej i ekspresji genów. Badania te były wykonywane w Zakładzie Cytologii Klinicznej, Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego.

W rozdziale wyniki doktorantka analizowała poziom 5-hydroksymetylocytozyny w zależności od złośliwości guza glejopochodnego. Jeżeli doktorantka zamierzała porównać jak zmienia się poziom 5-hydroksymetylocytozyny w zależności od stopnia złośliwości to niezrozumiałe jest podzielenie glejaków w IV stopniu złośliwości wg WHO na dwie podgrupy w stosunku do mediany: podgrupę z niskim i wysokim poziomem metylacji. Stąd nieprawidłowy wniosek, że poziom metylacji obniża się wraz ze wzrostem stopnia złośliwości glejaka, Gdyby analizowano całą grupę glejaków złośliwych nie uzyskano takiej prawidłowości. Ten wynik ma ważne znaczenie poznawcze. Ze względu na to, że grupa glejaków o wysokim stopniu złośliwości była najliczniejsza to po analizie wszystkich glejaków można by je wyodrębnić do oddzielnej analizy. Wraz ze wzrostem stopnia złośliwości guzów glejopochodnych wykazano spadek względnej ekspresji tkankowej TET1, TET2 oraz TET3. Aktywność enzymów TET w osoczu nie wykazała istotnych statystycznej różnic w zależności od stopnia złośliwości guza glejopochodnego. Analiza korelacji parametrów molekularnych z klinicznymi wykazała poziom ekspresji tkankowej TET1 oraz TET2 jako czynniki niezależne, które istotnie statystycznie negatywnie korelowały z przeżywalnością chorych. Korelacje pomiędzy poziomem 5-hydroksymetylocytozyny, a ekspresją TET1, TET2 oraz TET3 zarówno w tkance jak i w osoczu były nieistotne statystycznie. Przy analizie wieloczynnikowej w podgrupie czynników molekularnych 5-hydroksymetylocytozyny wykazano istotny wpływ na przeżywalność, jednak poziom 5-hydroksymetylocytozyny nie wpływał istotnie na szanse przeżycia.

Wnioski odpowiadają na cele pracy postawione przez doktorantkę. Nie mogę zgodzić się z pierwszym wnioskiem, że wraz ze wzrostem stopnia złośliwości stwierdza się obniżenie poziomu 5-hydroksymetylocytozyny, z wyjątkiem subpopulacji pacjentów w 4 stopniu złośliwości z wysokim poziomem 5-hydroksymetylocytozyny. Pisałem przy okazji recenzji wyników, że wyłącznie części pacjentów z wysokim poziomem 5-hydroksymetylocytozyny z grupy guzów IV stopniu złośliwości jest według mnie nieuprawniona. Bez tego zabiegu nie otrzymalibyśmy zależności opisanej we wniosku. Na uwagę zasługuje konstatacja, że brak istotności statystycznej pomiędzy 5-hydroksymetylocytozyny, a ekspresją TET1, TET2 oraz TET3 zarówno w tkance jak i w osoczu poddaje pod dyskusję możliwość zastosowaniu tego parametru jako biomarkera nowotworowego.

Rozdział dyskusja jest bardzo zwarty i mieści się na 7 stronach. Autorka omawia swoje wyniki w kontekście publikacji, które ukazały się w ostatnich 10 latach. Omówienie wyników w kontekście wyników dotychczas publikowanych jest na dobrym poziomie. Świadczy o znajomości tematu przed doktorantkę i o dobrym posługiwaniu się literaturą.

W rozdziale piśmiennictwo autorka umieściła 61 pozycji. W wszystkie umieszczone w tym rozdziale prace były przez doktorantkę zacytowane.

Streszczenie w języku polski i angielskim jest napisane jasno i zwięźle.

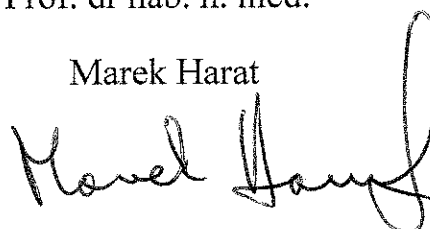
Przedstawione powyżej uwagi krytyczne nie pomniejszają ogólnej wartości pracy. Jej mocną stroną jest podjęcie ważnego i bardzo aktualnego w neuroonkologii tematu badawczego, wykonanie badań, które wymagały współpracy różnych specjalistów, wykonanie prawidłowej analizy statystycznej uzyskanych wyników omówienia uzyskanych wyników w oparciu o aktualną literaturę. Wszystko to świadczy, że doktorantka posiadała umiejętność

samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz wykazała się ogólną wiedzą teoretyczną z medycyny.

Przedłożona rozprawa spełnia warunki stawiane pracom doktorskim w zgodzie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z poen. zm.). Mam zatem przyjemność przedstawić Wysokiem Radzie Naukowej Instytutu Psychiatrii i Neurologii wniosek o dopuszczenie lekarz Angeliki Stapińskiej-Synieć do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med.

Marek Harat

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Marek Harat', written in a cursive style.