

# Wojskowy Instytut Medycyny Lotniczej



Warszawa, 16.03.2020 roku

dr hab. n. med. Andrzej Wojdas, prof. WIML  
Klinika Otolaryngologii  
ul. Krasińskiego 54, 01-755 Warszawa  
tel.: 261 852 341  
e-mail: awojdas@wiml.waw.pl

## Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. Joanny Radzikowskiej  
pt.: „Ocena wybranych markerów nowotworowych komórek macierzystych  
i angiogenezy w mięsach prążkowanokomórkowych u dzieci”

Przyczyny nowotworów złośliwych występujących u dzieci i młodzieży pozostają nieznane, jednakże badania epidemiologiczne i genetyczne umożliwiają częściowe wyjaśnienie pochodzenia tych nowotworów. Głównymi czynnikami, które zwiększają ryzyko powstawania nowotworów są osobniczo specyficzne zwiększone predyspozycje do choroby nowotworowej, takie jak wrodzone niedobory odporności, uwarunkowania genetyczne, a także wpływ czynników rakotwórczych znanych z indukowania nowotworów.

Niektóre nowotwory występują częściej w poszczególnych przedziałach wiekowych. W pierwszym roku życia najczęściej występują nerwiak zarodkowy i nerczak zarodkowy oraz siatkówczak. Pomiędzy 2 a 5 rokiem życia przypada szczyt zachorowań ostrej białaczki limfoblastycznej. Guzy mózgu występują najczęściej u dzieci poniżej 5 roku życia. Natomiast na chłoniaki i guzy kości zapada przede wszystkim młodzież w wieku 10-14 lat.

W krajach europejskich odnotowuje się każdego roku około 15 tys. nowych przypadków zachorowań na nowotwory złośliwe wśród dzieci do 14 roku życia, a wśród młodzieży i młodych dorosłych w wieku od 15 do 24 lat odnotowuje się dodatkowo 20 tys. nowych zachorowań.

Mięsaki będące u dorosłych są bardzo rzadkimi nowotworami, u dzieci są znacząco częstszą grupą nowotworów stanowiącą aż 20% wszystkich nowotworów złośliwych wieku rozwojowego. Jest to najczęstszy pierwotny, złośliwy nowotwór u dzieci.

Mięsak komórek prążkowanych jest nowotworem złośliwym tkanek miękkich, wywodzącym się z niezróżnicowanych embrionalnych komórek mezenchymalnych, które są zdolne do różnicowania w kierunku mięśni prążkowanych, często bez bezpośredniego związku z mięśniem. Budowa guza przypomina płodowe komórki tych mięśni. Przyczyny rozwoju guza nie są znane, uważa się, że czynniki genetyczne wpływają na rozwój niektórych jego postaci. Objawy i obraz kliniczny są związane z umiejscowieniem guza i mogą wystąpić w każdym wieku. Zmiany w narządzie wzroku są zlokalizowane w obrębie oczodołu lub poza nim. 10% wszystkich mięsaków jest usytuowanych w oczodole. Pozostałe mogą się rozwinąć w tkankach miękkich każdej innej części ciała. Mięsaki najczęściej zlokalizowane są w obrębie głowy i szyi – około 40% guzów, w układzie moczowo-płciowym – 25%, w kończynach – 20%.

Mięsaki wciąż pozostają, w tym zakresie, istotnym problemem diagnostycznym. Charakteryzują się znaczną progresją, agresywnym fenotypem, a przede wszystkim zdolnością do tworzenia odległych od ogniska pierwotnego przerzutów. Szczególnie trudne jest radykalne leczenie mięsaków obszaru głowy i szyi, gdzie bardzo trudno jest uzyskać całkowitą resekcję guza lub uzyskać bezpieczny margines tkankowy. Dlatego aktualnie obowiązuje protokół leczenia skojarzonego, opartego na chemioterapii, radioterapii i resekcji chirurgicznej.

Celem bardzo wielu badań naukowych jest dążenie do poszukiwania wartościowych i w miarę możliwości, swoistych molekularnych markerów prognostycznych i predykcyjnych nowotworów złośliwych.

Obecnie prowadzone są liczne badania nad markerami nowotworowych komórek macierzystych; Niestety, jak dotąd nie zidentyfikowano markera wystarczająco uniwersalnego, aby można go było stosować w praktyce klinicznej. Opisano jednak markery charakterystyczne dla poszczególnych guzów z pierwotnymi ogniskami pochodzącymi z określonego narządu, ale markery te nie zawsze są całkowicie specyficzne.

Innym kluczowym etapem w procesie transformacji nowotworowej jest proces przebudowy istniejących oraz tworzenia nowych naczyń krwionośnych, w konsekwencji prowadząc do wzrostu guza. Neoangiogeneza jest wieloetapowym, wielostopniowym procesem, który obejmuje m.in. degradację składników macierzy zewnątrzkomórkowej tworzących błonę podstawną naczyń, a także aktywację, migrację oraz proliferację komórek śródbłonna. Etap neoangiogenezy stanowi krytyczny moment zarówno podczas wzrostu guza pierwotnego jak i podczas tworzenia ognisk przerzutowych.

W związku z tym poruszony przez Doktorantkę temat jest ważny i bardzo aktualny, słusznie podjęty i zasługuje na wysokie uznanie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma klasyczny układ, obejmuje 158 strony maszynopisu podzielonego na 9 rozdziałów oraz zawiera 18 tabel, 17 rycin i 324 pozycje piśmiennictwa. Wykaz zamieszczonych na początku pracy używanych skrótów, spis tabel i rycin ułatwiają śledzenie treści pracy.

Rozprawa rozpoczyna się 42-stronicowym wstępem, w którym Doktorant skupia się na trzech tematach dotyczących: mięsaka prążkowanokomórkowego, nowotworowych komórek macierzystych (CSC) i angiogenezy w nowotworach. W pierwszej części wstępu autorka bardzo szczegółowo przedstawia epidemiologię, patogenezę, a następnie symptomatologię, diagnostykę i leczenie mięsaka prążkowanokomórkowego w oparciu o najnowsze doniesienia naukowe.

W części wstępu poświęconej nowotworowym komórkom macierzystym (CSC) autorka przedstawia markery nowotworowych komórek macierzystych, opisuje metody identyfikacji i izolowania nowotworowych komórek macierzystych oraz zastosowanie kliniczne.

Aktualnie przyjmuje się, że CSC powstają w wyniku mutacji genetycznych spowodowanych niestabilnością genetyczną i/lub niekorzystnym wpływem mikrośrodowiska. Dodatkowe mutacje nabyte przez CSC wraz ze zdolnością do samoodnawiania mogą prowadzić do rozwoju złośliwego nowotworu.

CSC wykazują ekspresję specyficznych markerów. Doktorantka wymieniła i opisała podstawowe markery powierzchniowe (CD133; CD44; CD24 i ALDH). W literaturze wymienia się jeszcze inne markery, których zastosowanie diagnostyczne jest marginalne tj.: białko oporności raka piersi ABCG2, białko Bmi-1 z rodziny białek Polycomb (PcG) i antygen komórek macierzystych (Sca-1).

Ostatnia, trzecia część wstępu opisuje angiogenezę w nowotworach czyli neoangiogenezę akcentując szczególnie opis markerów angiogenezy (CD31, CD34 i CD105). Kliniczne modele kancerogenezy, przedstawia wykorzystywane markery i wymienia metody do identyfikacji i izolowania nowotworowych komórek macierzystych oraz opisuje różnice pomiędzy angiogenezą fizjologiczną i nowotworową, a także przedstawia aktualnie stosowane markery do jej zróżnicowania.

Cele pracy, przedstawione w pięciu punktach, zostały sformułowane precyzyjnie i są aktualne nie tylko w świetle obecnego stanu wiedzy, ale również z punktu widzenia praktyki klinicznej.

Badania miały charakter retrospektywny.

Do badań wykorzystano archiwalne skrawki tkankowe 49 chorych poniżej 18 roku życia, pochodzące z biopsji pierwotnej lub z pierwotnej operacji od wyselekcjonowanych pacjentów z rozpoznaniem RMS. Grupę kontrolną stanowiło 18 chorych poniżej 18 roku życia, którym pobrano materiał tkankowy zawierający utkanie zdrowego mięśnia poprzecznie prążkowanego.

W rozdziale poświęconym metodyce zostały kolejno szczegółowo omówione metody identyfikacji markerów nowotworowych komórek macierzystych i neoangiogenezy.

Analiza statystyczna została przeprowadzona z użyciem programu SAS 9.4 z zastosowaniem właściwych testów parametrycznych i nieparametrycznych. Wzorowy dobór metod statystycznych pozwolił Autorce na maksymalne wykorzystanie otrzymanych wyników badań i świadczy o rzetelnej wiedzy Doktorantki oraz dowodzi odpowiedniej opieki Promotora.

Zasadniczą i obszerną częścią pracy stanowią wyniki przedstawione w rozdziale piątym. Są one opisane i zaprezentowane w sposób czytelny i przejrzysty z wykorzystaniem 10 tabel i 24 rycin.

Dyskusja jest interesująca i wartościowa, na wysokim poziomie merytorycznym. Doktorantka wyczerpująco, z dojrzałością naukową i umiejętnie analizuje wyniki swoich obserwacji na tle badań innych autorów.

Podsumowaniem pracy jest pięć wniosków, które wypływają logicznie z całości rozprawy i korelują z pytaniami postawionymi w celu pracy oraz stanowią kwintesencję tej rozprawy.

Piśmiennictwo jest dobrane starannie i właściwie wykorzystane w tekście rozprawy. Doktorantka cytuje 324 prac z literatury światowej i polskiej, w zdecydowanej większości z

ostatnich 10-15 lat, a co najmniej połowa cytowanych prac pochodzi z ostatniego dziesięciolecia.

Podsumowując: przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Joanny Radzikowskiej zatytułowana „Ocena wybranych markerów nowotworowych komórek macierzystych i angiogenezy w mięsakach prążkowanokomórkowych u dzieci” jest wartościową pracą badawczą o dużym walorze poznawczym. Świadczy o obszernej wiedzy ogólnej Doktorantka w zakresie reprezentowanego tematu, spostrzegawczości jak też umiejętności samodzielnego i prawidłowego planowania i prowadzenia badania naukowego.

Autorka zastosowała nowoczesne metody zbierania danych oraz stosownie dobrała metody statystyczne do opracowania wyników, na podstawie, których precyzyjnie sformułował wnioski odpowiadające założonych celom.

Rozprawa zarówno pod względem merytorycznym jak i metodologicznym została wykonana w sposób prawidłowy. Oryginalność podjętej tematyki, trafność doboru metod i narzędzi badawczych oraz wnikliwa ocena wyników zasługuje na szacunek recenzenta. Umiejętność korzystania ze źródeł naukowych jak też właściwy dobór piśmiennictwa stanowią także o walorach pracy i dojrzałości naukowej Doktorantki.

Rozprawa doktorska lek. Joanny Radzikowskiej pt.: „Ocena wybranych markerów nowotworowych komórek macierzystych i angiogenezy w mięsakach prążkowanokomórkowych u dzieci” oceniam bardzo wysoko i stwierdzam, że spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 z dnia 3 lipca 2018. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 poz. 1669 z późn. zm.) stawiane rozprawom na stopień w zakresie doktora nauk medycznych.

Z satysfakcją zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Joanny Radzikowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o przyznanie wyróżnienia przedłożonej mi do oceny rozprawie doktorskiej lek. Joanny Radzikowskiej, pt. „Ocena wybranych markerów nowotworowych komórek macierzystych i angiogenezy w mięsakach prążkowanokomórkowych u dzieci”.

Jako recenzent, który wnikliwie zapoznał się z treścią wyżej wymienionej pracy doktorskiej, z pełną odpowiedzialnością mogę stwierdzić, że zarówno unikalna tematyka, jak i całokształt prac badawczych, wykonanych i przejrzyste przedstawionych przez Doktorantkę w tej starannie sporządzonej rozprawie, wyraźnie przewyższa przeciętne wymagania stawiane pracom doktorskim.

*Z wyrazami szacunku*

KIEROWNIK  
KLINIKI OTOLARYNGOLOGII  
Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej  
*J. Woźniak*  
płk rez. dr h.c. n. med. Andrzej WOJDAS  
prof. WIML