

Warszawa, 1.02.2021 r.

Prof. Dr hab n med Lucjan Wyrwicz
Klinika Onkologii i Radioterapii
Narodowy Instytut Onkologii im M Skłodowskiej-Curie
Ul. Wawelska 15, 02-034 Warszawa

**Recenzja rozprawy doktorskiej pana lek. Marcina Brauna zatytułowanej
„Znaczenie kliniczne osi FGFR2-PR w inwazyjnym raku piersi“**

Rak piersi z ekspresją receptorów hormonalnych jest ważnym problemem społecznym. W obrębie tej grupy chorych, jakby mogło się wydawać o relatywnie dobrym rokowaniu, znajduje się podgrupa chorych, u których trudno jest uzyskiwać satysfakcjonujące wyniki leczenia. W doborze pacjentów o gorszym rokowaniu, poza kryterium wielkości samego ogniska pierwotnego kluczowy jest status receptorów steroidowych (ER – receptor estrogenowy, PR – receptor progesteronowy) oraz indeks mitotyczny mierzony zwykle na poziomie barwienia immunohistochemicznego parametrem Ki67. Te trzy podstawowe parametry uzupełnione o status ekspresji receptora HER2 tworzą współczesną, niedoskonałą ciągle klasyfikację podtypów molekularnych raka piersi.

W toku „rewolucji genomicznej“, której świadkami jesteśmy od ostatnich około 20 lat, tworzono złożone modele przewidywania ryzyka związanego z niepowodzeniem terapii chorych na raka piersi. Klasyczne modele oparte o ekspresję trzech wymienionych białek receptorowych i indeks komórek z ekspresją Ki67 był uzupełniany o złożone charakterystyki związane z alternatywną ekspresją genów. Wydawało się, iż taka stratyfikacja oparta o profile molekularne przyniesie odmianę postępowania. Nadzieje te okazały się być jednak przedwczesne. Ostatnie lata utwierdzają nas jednak, o tym, iż kluczowymi markerami prognostycznymi i predykcyjnymi w doborze leczenia u chorych na raka piersi są wyłącznie klasyczne ww. czynniki.

Powody dla niepowodzenia „strategii molekularnej“ w stratyfikacji chorych są upatrywane różnie w literaturze. Jednym z najważniejszych ograniczeń technologicznych dla zbyt szczegółowej stratyfikacji jest obserwowana heterogenność molekularna raka piersi. Tzn. W przypadku kilkucentymetrowego guza nowotworowego możliwe są do znalezienia utkania raka zarówno przedinwazyjnego, jak i inwazyjnego oraz o heterogennej ekspresji poszczególnych białek. Przy przejściu na niższe poziomy ekspresji genów (mRNA czy miRNA) jeszcze bardziej wyraźne stają



różnice związane z odmiennym składem komórkowym zrębu nienowotworowego guza czy problemu heterogenności oceny na etapie przed laboratoryjnym (np. degradacja RNA). Jednocześnie – jak pokazuje praktyka badań molekularnych w onkologii, stabilnymi i pożądanymi biomarkerami są biomarkery powiązane z pierwotnym onkogennym zjawiskiem prowadzącym do karcynogenezy i tylko tak ustanowione biomarkery są „stabilne“ do tego stopnia, iż znajdujemy ich odzwierciedlenie zarówno w praktyce klinicznej, jak i ocenie ekspresji genów, podając przekrojowo przykłady z onkologii raka płuca z mutacją w genie EGFR, białaczki szpikowej z obecnością chromosomu Philadelphifa, czy raka piersi ER+/PR+/HER2-.

W przedmiotowej pracy Pan dr Braun skupił się na opisanej wcześniej na poziomie linii komórkowych interakcji pomiędzy osią FGFR2 a receptorem progesteronowym (PR). Wybór receptora PR wynika z faktu, iż jest on w mniejszym stopniu powiązany z pierwotnymi zjawiskami z zakresu karcynogenezy (tzn. częściej dochodzi do jego utraty w przebiegu historii naturalnej raka piersi zależnego od receptorów steroidowych). Jednocześnie – oś FGFR2 jest typowo powiązana z podścieliskiem guza i interakcją raka z mikrośrodowiskiem. Stąd model komórkowy, który posłużył do wyboru tematu mógł być nieoptymalny. Jakkolwiek – posiadając takie dane wstępne oraz uwzględniając zasadność badania „wilków w owczej skórze“ w obrębie grupy luminalnych raków piersi, wybór tego tematu należy przyjąć za właściwy.

Do recenzji przedstawiono pracę w formie cyklu trzech publikacji, wydaną wraz z komentarzem w formie książkowej. Rozprawa zawiera 108 stron, jest wydana estetycznie i składa się z typowych części – wprowadzenia, celów pracy, omówienia prac włączonych do cyklu, samych publikacji, podsumowania u piśmiennictwa. Całość jest uzupełniona oświadczeniami współautorów publikacji oraz streszczeniami w języku polskim i angielskim.

Wprowadzenie omawia ogólnie rys patologiczny i kliniczny raka piersi ze szczególnym uwzględnieniem analizowanych w pracy parametrów. W kolejnej części omówiono na podstawie literatury funkcjonowanie osi receptora progesteronowego. Dalej omówiono istotną rolę sygnalizacji FGFR w rozwoju luminalnego raka piersi. Z racji uwzględnienia w cyklu publikacji dotyczącej uczenia maszynowego w analizie obrazów patomorfologicznych całość zakończona jest podsumowaniem z tego zakresu.

W rozdziale cel pracy omówiono zadania postawione przed rozprawą, w osadzeniu w danych przedklinicznych. W ocenie recenzenta cel pracy powstał jednak wtórnie do uzyskanych wyników, co nie jest błędem warsztatowym uwzględniając specyfikę badań molekularnych oraz fakt, iż same badania nie potwierdziły założonych hipotez. Celem pracy tak opisanym jest:

- określenie znaczenia prognostycznego ekspresji białka i mRNA genu *FGFR* (powinno być „ekspresji *FGFR2* ocenianej na poziomie ekspresji białka i mRNA“) w guzach pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi w kontekście standardowych biomarkerów;
- ocena przydatności sztucznej inteligencji i uczenia maszynowego (powinno być „ocena przydatności metod/algorytmów wykorzystujących mechanizmy sztucznej inteligencji i

uczenia maszynowego”) na przykładzie oceny immunohistochemicznego oznaczania białka FGFR2.

Drugi cel określono jako „cel drugoplanowy“.

Należy nadmienić, iż pierwsza z wymienionych w cyklu prac nie odpowiada na żaden z celów.

W kolejnej części omówione zostały prace z cyklu. W pierwszej pracy zatytułowanej „FGFs/FGFr-dependent signalling in regulation of steroid hormone receptors-implications for therapy of luminal breast cancer“ omówiono rys literaturowy dotyczący problemu. Praca ma charakter przeglądu literaturowego, nie jest odpowiedzią na założone cele pracy. W ocenie recenzenta wartość tej publikacji w cyklu jest ograniczona, ale pomaga we wprowadzeniu do tematu.

W drugiej pracy zatytułowanej „Hormonal receptor status determines prognostic significance of FGFR2 in invasive carcinoma“ opisuje właściwe wyniki doktoratu. W pracy opracowano sposób oceny aktywności transkrypcyjnej receptora progesteronowego (PR), którym określano populację chorych z rakami z „superaktywnymi“ i szybko degradowanymi PR. W stworzeniu tej metody wykorzystano metodologię bioinformatyczną, dane z baz TCGA co pozwoliło na wytypowanie 21 genów kandydatów. Z metodologicznego punktu widzenia, w ocenie recenzenta, w niniejszej pracy brakuje metod weryfikacji tak określonego markera wielogenowego (np. poprzez stworzenie niezależnego zbioru testowego lub metody stosowane powszechnie w klasyfikatorach w bioinformatyce – np. algorytm leave-one-out). **Stąd proszę o uzyskanie od doktoranta odpowiedzi na pytanie, czy wykorzystanie niezależnego zbioru testowego lub innych algorytmów mogłoby pozwolić na wytypowanie innego zbioru genów reporterowych.** Wytypowanie tego zbioru danych było kluczowe dla całości procesu wnioskowania.

W dalszej części pracy analizowano ekspresję *FGFR2* na poziomie białka, dochodząc do konkluzji, iż niski poziom *FGFR2* wiąże się z niekorzystnym rokowaniem mierzony za pomocą przeżycia całkowitego w wytypowanej grupie ogólnej. W ocenie recenzenta ta część pracy warto aby została zwalidowana w zebranej prospektywnie kohorcie pacjentów homogennych pod względem interwencji (np. pacjentki leczone w określony sposób pooperacyjnie z wykorzystaniem konkretnego rodzaju hormonoterapii z wyłączeniem chorych z rozsiewem raka piersi czy kohorta chorych leczonych „współcześnie“ hormonoterapią z inhibitorami CDK4/6 w przypadku pierwszej linii leczenia paliatywnego uogólnionego homonozależnego raka piersi). **I tu moje drugie pytanie do doktoranta: czy znane są inne opracowania wiążące ekspresję *FGFR2* z rokowaniem w raku piersi i jeśli tak to w jakich kohortach były prowadzone badania.**

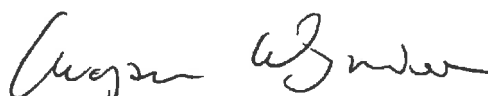
W trzeciej pracy skupiono się na pytaniu czy możliwe jest zastąpienie oceny eksperckiej w analizie ekspresji na poziomie białka *FGFR2* poprzez wykorzystanie metod AI/ML. Praca ta stanowi pracę aplikacyjną i wskazuje na możliwość wykonania takiej analizy pokazując na liczne ograniczenia dla takiej metodologii. Jakkolwiek jest to ciekawy temat, opracowany dość profesjonalnie i nowatorsko.



Rozprawa doktorska jest egzaminem dojrzałości naukowca. Ostatnim mankamentem jaki recenzent pragnąłby zauważyć jest sam tytuł rozprawy. Do recenzji przedstawiono cykl prac, których jedynymi elementami spajającymi jest fakt, iż są poświęcone rakowi piersi, to że ten rak piersi wykazuje ekspresję receptorów steroidowych (i to nawet „bardziej“ ER niż PR) oraz białku FGFR2. Czy rzeczywiście cykl prac jest poświęcony „znaczeniu klinicznemu osi FGFR2-PR“ skoro zaprzeczono aby taka oś rzeczywiście funkcjonowała na poziomie indywidualnych pacjentów? Jakkolwiek – w annałach polskiej nauki taki tytuł będzie funkcjonował. **I tu moje ostatnie zapytanie do doktoranta - jaki w świetle wyników tytuł pracy można wstecznie zaproponować aby w pełni charakteryzował dzieło? Bez zmiany tytułu niestety – cykl publikacji nie jest monotematyczny (bo nie odpowiada tytułowi). Stąd w egzaminie dojrzałości naukowca pragnąłbym usłyszeć nową sugestię tytułu.**

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi dzieło naukowe spełniające kryteria stawiane przed rozprawami doktorskimi. Pomimo pomniejszych mankamentów pracy, niniejszą rozprawę należy ocenić dobrze. Praca z pewnością stanowi ważne opracowanie, aprezentowane wnioski stanowią wartość dodaną do dziedziny. Mając na względzie powyższe - wnoszę o dopuszczenie doktoranta do dalszych etapów postępowania.

Warszawa, 01 luty 2021 r.



Prof. Lucjan Wyrwicz