



UNIwersytet
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Collegium Medicum
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

COLLEGIUM MEDICUM IM. LUDWIKA RYDYGIERA W BYDGOSZCZY

UNIwersytet MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU

KATEDRA PATOMORFOLOGII KLINICZNEJ

Kierownik: dr hab. n. med. Dariusz Grzanka, prof. UMK

ul. M. Skłodowskiej-Curie 9 85-094 Bydgoszcz, tel.: +48 (52) 5854200 fax/tel: +48 (52) 5854049, e-mail: patomorfologia@cm.umk.pl

Bydgoszcz, dn. 31.12.2020 r.

dr hab. n. med. Dariusz Grzanka
Kierownik Katedry i Zakładu Patomorfologii Klinicznej
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
ul. Curie Skłodowskiej 9
85-094 Bydgoszcz

Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Znaczenie kliniczne osi FGFR2-PR w inwazyjnym raku piersi” autorstwa lek. Marcina Brauna

promotor: dr hab. n. med. Hanna Maria Romańska-Knight, prof. UM w Łodzi

Rak piersi jest heterogennym typem nowotworu o bardzo zróżnicowanym podłożu molekularnym, co często wiąże się z odmiennym zachowaniem klinicznym. Molekularna heterogenność raka piersi znajduje odzwierciedlenie w podziale na podtypy wydzielone na podstawie profilowania genetycznego, a rozpoznanie właściwego podtypu molekularnego jest niezwykle istotne zarówno z punktu widzenia diagnostycznego, jak i terapeutycznego. Stąd, pomimo ciągłego udoskonalania technik obrazowania diagnostycznego w ramach kilku toczących się obecnie pracach badawczo-rozwojowych, wciąż niezastąpiona jest diagnostyka histopatologiczna, oparta głównie na immunohistochemicznej ocenie ekspresji markerów białkowych, które odzwierciedlają profil charakterystyczny dla każdego podtypu molekularnego raka piersi. Właściwa diagnostyka jest niezwykle istotna, gdyż poszczególne podtypy raka piersi różnią się od siebie w zakresie odpowiedzi terapeutycznej i rokowniczej.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska porusza niezwykle ciekawe zagadnienia dotyczące weryfikacji na materiale klinicznym hipotezy postulującej, że w grupie pacjentek z rakiem piersi luminalnym B o fałszywie ujemnym statusie PR (niewykrywalnym na poziomie

białka, lecz aktywnym na poziomie transkrypcyjnym), wysoki poziom białka FGFR2 jest wskaźnikiem złego rokowania. Hipotezę postawiono na podstawie dotychczasowych badań przedklinicznych, które wskazują na bezpośredni związek pomiędzy sygnalizacją inicjowaną od FGFR2 a powstaniem fenotypu „superaktywnego” i szybko degradowanego PR (niewykrywalnego na poziomie białka) oraz związek pomiędzy „superaktywnym” fenotypem a niezależną od stymulacji hormonalnej progresją i rozwojem oporności na hormonoterapię w raku piersi luminalnym B (ER+ PR-).

Rozprawa doktorska stanowi omówienie zbioru 3 powiązanych tematycznie publikacji naukowych o całkowitym współczynniku oddziaływania $IF=16.304$ i 350 punktach wg MNiSW. Zbiór ten poprzedzono wykazem skrótów oraz krótkim, ale treściwym wprowadzeniem w zagadnienia związane z omówionymi i załączonymi pracami naukowymi oraz wspólnymi celami cyklu publikacji. Całość zakończona jest podsumowaniem, piśmiennictwem, oświadczeniami autorów prac zbiorowych włączonych do cyklu oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim. Taka forma rozprawy oraz jakość i współczynniki bibliometryczne publikacji naukowych włączonych do cyklu nie budzą najmniejszych wątpliwości w zasadność powstania rozprawy i pokazują, że lek. Marcin Braun jest wybitnym i bardzo dobrze rokującym na przyszłość młodym naukowcem o gruntownej wiedzy w zakresie przedmiotu rozprawy.

Celami powiązanego tematycznie zbioru publikacji naukowych stanowiących rozprawę doktorską lek. Marcina Brauna były niezwykle użyteczne praktycznie aspekty związane z:

1. Określeniem znaczenia prognostycznego ekspresji białka i mRNA genu *FGFR2* w guzach pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi w kontekście standardowo ocenianych czynników prognostycznych i predykcyjnych, ze szczególnym uwzględnieniem statusu receptorów steroidowych i sygnatury molekularnej związanej z hiperaktywacją i degradacją PR

oraz

2. Oceną przydatności sztucznej inteligencji (AI) i uczenia maszynowego (ML) jako metod potencjalnie rewolucjonizujących diagnostykę patomorfologiczną na przykładzie oceny immunohistochemicznego oznaczenia białka FGFR2.

Pierwszą pracę naukową przedstawionego do oceny cyklu stanowi publikacja poglądowa opublikowana w *J Exp Clin Cancer Res* (2019; 38: 230), w której udział Doktoranta polegał na pisaniu i edycji manuskryptu, edycji rycin oraz akceptacji wersji ostatecznej. Publikacja podsumowuje dotychczasową wiedzę o interakcji pomiędzy sygnalizacją od receptora czynników wzrostu fibroblastów (FGFR) a aktywnością i funkcją receptorów estrogenowego i progesteronowego. W pracy uwzględniono zarówno molekularny aspekt tych wzajemnych zależności, jak i aspekt translacyjny w obszarze diagnostyki i terapii luminalnego raka piersi. Z punktu widzenia wydzielonej treści z pracy zbiorowej i celu niniejszej rozprawy niezwykle istotne wydają się być ryciny podsumowujące dotychczasowe badania podstawowe (w szczególności rycina nr 3), które ilustrują związek pomiędzy wzmożonym przekazywaniem sygnału od receptora FGFR2 a progresją nowotworu, gorszą odpowiedzią na hormonoterapię i w efekcie złym rokowaniem pacjentek z rakiem piersi ER+ PR- (z PR niewykrywalnym na poziomie białka i hiperaktywnym na poziomie transkrypcyjnym) i stanowiły podstawę do postawienia hipotezy badawczej weryfikowanej w kolejnych publikacjach cyklu. Drugim, równie ważnym aspektem poruszonym w pracy było podsumowanie 179 zakończonych lub toczących się badań klinicznych nad zastosowaniem inhibitorów szlaku FGF/FGFR w onkologii, które pokazywały dużą toksyczność i umiarkowaną skuteczność inhibicji FGF/FGFR, co w pewnym sensie odzwierciedla ich niskie zaawansowanie kliniczne. Warto podkreślić, że na dzień sporządzenia recenzji pracę zacytowano 13 razy wg Web of Science Core Collection, a Doktorant był pierwszym autorem równorzędnym.

Drugą pracę naukową z cyklu opublikowano w *Cancers (Basel)* (2020; 12: 2713) i dotyczy kluczowej dla celu przedłożonej rozprawy doktorskiej weryfikacji hipotezy dotyczącej związku pomiędzy ekspresją białka FGFR2, aktywnością transkrypcyjną PR, statusem ER i PR a cechami kliniczno-patologicznymi i rokowaniem u pacjentek z rakiem piersi. Zgodnie z oświadczeniem, Doktorant odpowiedzialny był za konceptualizację, czynny udział we wszystkich etapach eksperymentalnych, pisaniu i redagowaniu manuskryptu oraz akceptacji jego ostatecznej wersji. Badania przeprowadzono na 353 pacjentkach z rakiem piersi, spośród których 70% wykazywało fenotyp luminalny A, 20 luminalny B i 10 fenotyp bazalny oraz przy wykorzystaniu danych z baz TCGA i KMplotter. Wyniki tej niezwykle atrakcyjnej pracy pokazały, że niski poziom FGFR2 (zarówno na poziomie białka, jak i mRNA) był związany z brakiem ekspresji ER i PR oraz z cechami złego rokowania, tj. wysoki stopień złośliwości guza oraz wysoki indeks proliferacyjny Ki67. Dodatkowo, analizy przeżycia wykazały zły rokowniczo związek pomiędzy niskim poziomem FGFR2 a OS i

DFS. Związek prognostyczny pomiędzy niskim poziomem mRNA FGFR2 a gorszym OS i DFS zweryfikowano w oparciu o ogólnodostępne bazy danych. Podobnie jak w danych uzyskanych przez Doktoranta, pacjentki ER+PR+ z niskim poziomem mRNA FGFR2 charakteryzowały się gorszym rokowaniem (biorąc pod uwagę OS i DFS) w porównaniu do pacjentek z wysokim poziomem mRNA FGFR2. Co ciekawe, w grupie pacjentek ER+ PR-wysoka ekspresja mRNA *FGFR2* związana była ze złym rokowaniem. Istotność obserwacji została potwierdzona w analizie wieloczynnikowej i analizie uwzględniającej status aktywności transkrypcyjnej PR(mol). Podsumowując, przeprowadzone badania dowiodły, że niski poziom białka FGFR2 był związany z gorszym rokowaniem u pacjentek z luminalnym rakiem piersi, a efekt ten, widoczny w podgrupie pacjentek ER+PR+, był niezależny od statusu PR(mol), co może uzasadniać ograniczoną skuteczność inhibitorów FGFR w dotychczasowych próbach klinicznych oraz niejednoznaczne i często sprzeczne wyniki na temat wartości prognostycznej ekspresji FGF/FGFR w raku piersi i innych typach nowotworów.

Ostatnią, czyli trzecią pracę cyklu, opublikowano w *Diagnostics (Basel)* (2020; 10: 1060), a wkład Doktoranta w powstanie pracy polegał na konceptualizacji, czynnym udziale we wszystkich etapach eksperymentalnych, przygotowaniu manuskryptu oraz redagowaniu i akceptacji jego ostatecznej wersji. Praca dotyczy wykorzystania uczenia maszynowego i sztucznej inteligencji do oceny histopatologicznych czynników prognostycznych i predykcyjnych na przykładzie oceny barwienia immunohistochemicznego białka FGFR2. Otrzymane wyniki poziomu ekspresji FGFR2 oznaczonego przez algorytm zestawiono statystycznie z wynikami oceny patomorfologicznej w celu oceny zgodności. Wykazano, że o ile zgodność oceny jakościowej ekspresji białka FGFR2 była wysoka pomiędzy obydwojema metodami to zgodność pomiędzy pomiarami półilościowymi i ilościowymi była jedynie zadowalająca. W publikacji wskazano zalety metody i zgodność pomiędzy patologiem a algorytmami uczenia maszynowego i sztucznej inteligencji, ale jednocześnie podkreślono napotkane problemy w zastosowaniu algorytmów podczas rutynowej diagnostyki histopatologicznej. Przedstawione ograniczenia sztucznej inteligencji w „realnym życiu” podkreślają potrzebę jej dalszego udoskonalania, aby mogły stać się wartościowym narzędziem badawczym. Jednakże nie są one w stanie na chwilę obecną i prawdopodobnie nigdy nie będą w stanie całkowicie zastąpić specjalistycznej wiedzy i doświadczenia lekarza patomorfologa.

Wyniki badań ujętych w części doświadczałnej rozprawy świadczą o złożoności roli FGFR2 w patogenezie inwazyjnego raka piersi i zależności znaczenia prognostycznego

FGFR2 od kontekstu biologicznego. Praca doktorska pokazała również, że pomimo ogromnej nadziei i niewątpliwej użyteczności, wykorzystanie algorytmów uczenia maszynowego i sztucznej inteligencji w patologii jest wciąż uzależnione od nadzoru lekarza patomorfologa.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest spójna i istotna z punktu widzenia podjętej problematyki badawczej. Doktorant udowodnił, że potrafi samodzielnie sformułować i rozwiązać problem naukowy, dobrze dobrać i opanować techniki badawcze, a także przeprowadzić dyskusję swoich wyników z wynikami innych grup badawczych. A zatem Doktorant udowodnił, że posiada zdolności do prowadzenia samodzielnych badań naukowych.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Stąd, zwracam się do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. Marcina Brauna do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W związku z wysoką wartością naukową rozprawy, publikacją wyników badań w uznanych czasopismach naukowych, ich widoczny wkład dla reprezentowanej przez siebie dziedziny nauki oraz stopniem indywidualnego zaangażowaniem Doktoranta w powstanie prac zbiorowych uznaję rozprawę doktorską jako wyróżniającą się. Stąd wnoszę do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. Marcina Brauna pt. „Znaczenie kliniczne osi FGFR2-PR w inwazyjnym raku piersi”.


KIEROWNIK
Katedry Patomorfologii Klinicznej
dr hab. Dariusz Gizenka, prof. UMK