

Dr hab. n. med. Wojciech Górecki
Klinika Chirurgii Dziecięcej, Instytut Pediatrii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej Pani lek. Justyny Łuczak, pt. „**Guzy jajnika u dzieci – aspekty kliniczne i badania eksperymentalne**”.

Przedstawione mi do recenzji dzieło ma charakter spójnego tematycznie zbioru trzech artykułów opublikowanych w prestiżowych czasopismach anglojęzycznych z listy filadelfijskiej. Zbiór ten od strony technicznej jest estetycznie opracowany w formie jednostronnego wydruku 50 stron formatu A4 w oprawie introligatorskiej, charakterystycznej dla tego rodzaju dzieł.

Rozprawa ma typowy układ rozdziałów obejmujący: Streszczenie w języku polskim i angielskim Wstęp, Cel, Metody, Wyniki, Wnioski, oraz właściwe publikacje. W części kończącej rozprawę załączono oświadczenia wszystkich współautorów opisujące ich wkład w poszczególne prace oraz ich zatwierdzenie i akceptację.

W **Streszczeniu** w wersji polskojęzycznej ostatnie zdanie w sekcji Wyniki powinno zawierać zamiast określenia „poziomy pęcherzyków”, określenie „postacie rozwojowe i liczba pęcherzyków”, co odpowiadałoby treści pracy oraz określeniu użytemu w wersji anglojęzycznej.

Związły **Wstęp** wprowadza w tematykę opublikowanych prac. I tak doktorantka podkreśla, że pomimo różnic w patologii zmian w jajnikach w różnych grupach wiekowych, przez wiele lat schematy opracowane dla dorosłych stosowane były u dzieci i zależały od preferencji ośrodka. Brak wytycznych leczenia guzów jajnika u dzieci w Polsce jest przyczyną trudności w podejmowaniu odpowiednich decyzji diagnostycznych i terapeutycznych. Z zagadnieniem tym doktoranta zmierzyła się w publikacji „Wybór metody leczenia zmian jajnika u dzieci – 24 lata doświadczeń jednego ośrodka”. Drugim tematem badawczym doktorantki są potworniaki jajnika, które, mimo że są najczęstszym nowotworem w dziecięcej gonadzie, wciąż budzą wątpliwości co stosowania operacji oszczędzających zajęłą gonadę czy konieczności chemioterapii. Problem ten zasługuje na analizę opartą na większej liczbie obserwacji, do czego autorka odnosi się w publikacji „Potworniaki jajnika u dzieci: wezwanie do wielośrodkowego badania klinicznego”. Trzecim zagadnieniem badawczym są skutki pobrania fragmentu jajnika w okresie przedpokwitaniowym, zarówno w celu przechowania tkanki jajnika jak i wykonania badań diagnostycznych. Wskazania do tych procedur są niejasne i nie ma wytycznych regulujących te zagadnienia. Z oceną skutków tych procedur doktorantka zmierzyła się w eksperymentalnej pracy „Czy otwarta biopsja jajnika w wieku przedpokwitaniowym wpływa na rezerwę jajnikową w modelu szczurzym?”

Przedstawione zagadnienia i ich dobór świadczą o szczególnym zainteresowaniu tematem badawczym, dobrym przygotowaniu teoretycznym doktorantki i przekonują zarówno co do zasadności wprowadzenia klinicznych badań wieloośrodkowych jak i prowadzenia prac eksperymentalnych.

Celem głównym części klinicznej dysertacji jest analiza różnych aspektów klinicznych poszczególnych rodzajów guzów jajnika u dzieci. Cel ten został precyzyjnie zdefiniowany w rozbiciu na cele szczegółowe obejmujące epidemiologię, symptomatologię, sposoby leczenia, określenie cech złośliwości i stworzenie algorytmu przydatnego w codziennej praktyce. Część eksperymentalna miała na celu określenie wpływu jednostronnej biopsji jajnika na rezerwę jajnikową w przypadku pozostawienia drugiej gonady oraz jej usunięcia, ocenianej w różnych przedziałach czasowych od wykonania zabiegu.

Metodą badań w części klinicznej była analiza retrospektywna dokumentacji medycznej pacjentek pediatrycznych, od urodzenia do 18 roku życia operowanych z powodu zmiany w jajniku w macierzystym ośrodku doktorantki - w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej we Wrocławiu. Analizę porównawczą danych przeprowadzono w dwóch następujących po sobie dekadach. Na wykonanie części klinicznej uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu. W części eksperymentalnej przeprowadzonej w Zwierzętarńi Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu metoda obejmowała wykonanie u szczurów płci żeńskiej z hodowli własnej przed okresem pokwitania, drogą laparotomii, biopsji jajnika lub biopsji i usunięcia jednej lub obu gonad. W ocenie wyników stosowano badania cytologiczne wymazów z pochwy, oznaczenie poziomu hormonu antymullerowskiego i folikulotropowego (AMH i FSH) w surowicy krwi oraz badania histopatologiczne i biochemiczne pobranych tkanek jajników. Po zakończeniu procedur zwierzęta oddano do adopcji. Na tę część doktorantka uzyskała zgodę Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu.

W sekcji **Wyniki** doktorantka przedstawia skrótowo opis wyników badań w trzech podrozdziałach odnoszących się odpowiednio do każdej z prac, w których zawarte są szczegółowe opisy.

I tak w pierwszej pracy przedstawiającej wybór metody leczenia w ciągu 24 lat autorka przedstawia szerokie spektrum danych klinicznych, znajdując istotne zależności statystyczne dla obecności nowotworu złośliwego: dodatnie markery nowotworowe, wielkość guza powyżej 10 cm i wiek pacjentki poniżej 14 roku życia.

Uwagę zwraca fakt całkowitego usunięcia gonady u 52% dziewczynek ze zmianami czynnościowymi jajnika oraz u 82% z nowotworem łagodnym. Są to dane historyczne z materiału z 24 lat z podanym przez autorkę wzrostem odsetka operacji oszczędzających w kolejnych latach. Przedstawienie tych danych uzasadnia podjęcie tematu badawczego w celu stworzenia algorytmu pomagającego podjąć odpowiednie decyzje terapeutyczne i znacząco zwiększyć odsetek operacji oszczędzających w nowotworach łagodnych i zmianach czynnościowych.

W drugiej pracy omawiającej potworniaki jajnika u dzieci autorka przedstawia obraz histologiczny z podziałem na potworniaki dojrzałe i niedojrzałe, obecność markerów nowotworowych, dostęp operacyjny i wykonanie operacji oszczędzającej. U wszystkich

dziewczynek z potworniakiem niedojrzałym usunięto zajęta gonadę i zastosowano skojarzone leczenie przeciwnowotworowe.

Uważam, że ponieważ wszystkie pacjentki z potworniakiem niedojrzałym miały podniesiony poziom AFP, w istocie mogły mieć postać mieszaną guza zarodkowego (ogniska raka zarodkowego albo guza pęcherzyka żółtkowego w potworniaku niedojrzałym) i zastosowanie chemioterapii było w pełni uzasadnione. Z satysfakcją należy przyjąć czterokrotny wzrost operacji oszczędzającej jajnik w potworniaku dojrzałym w kolejnych latach. Przedstawienie tych wyników wraz z wezwaniem do badania wielośrodkowego świadczy o dostrzeganiu przez doktorantkę problemu braku wytycznych leczenia guzów jajnika u dzieci w Polsce i trudności w podejmowaniu odpowiednich decyzji diagnostycznych i terapeutycznych.

W trzeciej pracy doktorantka wykazała zależność poziomu hormonów w surowicy w grupie szczurów u których usunięto jedną lub obie gonady w miarę upływu czasu oraz związek między ilością pęcherzyków pierwotnych w jajniku niepoddanym biopsji a poziomami hormonów a także związek między ilością pęcherzyków atretycznych w jajniku poddanym biopsji z poziomem hormonów w surowicy.

We **Wnioskach** do części klinicznej doktorantka podkreśla, że wytyczne leczenia zmian w jajniku u dzieci powinny być ustanowione na podstawie wielośrodkowego badania prospektywnego w celu ujednoczenia postępowania i poprawy odsetka oszczędzania tkanki jajnika w ośrodkach chirurgii dziecięcej oraz że zabiegi oszczędzające tkankę jajnika mogą być stosowane w przypadku rozpoznania potworniaka jajnika u dzieci. W części eksperymentalnej autorka konkluduje, że izolowana, prawidłowo wykonana biopsja jajnika nie powinna nieść ze sobą ryzyka zmniejszenia rezerwy jajnikowej, natomiast może mieć negatywne skutki w przypadku zabiegu na jedynym jajniku. Pomiar poziomu AMH w surowicy przed i po wykonaniu procedury potencjalnie wpływającej na jajnik powinny być uwzględniane w procesie terapeutycznym dziewczynek.

W podsumowaniu wniosków wynikających z przeprowadzonych badań autorka przedstawia perspektywiczne zastosowanie zdobytej wiedzy. Stała się ona inspiracją do stworzenia krajowych rekomendacji leczenia zmian w dziecięcym jajniku oraz do oceny ryzyka pobierania tkanki jajnika. Badanie eksperymentalne dostarczyło danych które są naukowo akceptowalnymi odpowiednikami określenia przyszłej płodności u dzieci.

W końcowej części dysertacji autorka przedstawia opublikowane drukiem trzy omawiane prace. Sam fakt opublikowania materiału badawczego po przejściu przez etap kwalifikacji do druku i recenzji redakcyjnej w renomowanych czasopismach naukowych dowodzi jego wartości. Z obowiązku recenzenta rozprawy doktorskiej skupię się zatem na ocenie merytorycznej i metodologicznej podjętych tematów oraz formie ich przedstawienia.

Przeanalizuję również nieprzedstawione w części wstępnej doktoratu sekcje **Dyskusji** uzyskanych wyników w odniesieniu do zgromadzonego **Piśmiennictwa**.

W **opublikowanych pracach** dane przedstawione są w estetycznych, przejrzystych i czytelnych tabelach i rycinach. Część eksperymentalna ilustrowana jest obrazami histologicznymi. Ich analiza przeprowadzona jest precyzyjnie opisanymi, odpowiednim dla rodzaju danych narzędziami statystycznymi, z typowym dla nauk medycznych progiem istotności. W części klinicznej w sekcji dyskusji autorka krytycznie porównuje wyniki własne z wybranym piśmiennictwem. Zwraca uwagę na wady badań retrospektywnych. Niemniej jednak obszerny materiał wraz z odniesieniem do literatury pozwolił autorce zaproponować algorytm postępowania w przypadkach zmian w jajniku u dzieci. Jest to najbardziej wartościowy

element części klinicznej pozwalający zwiększyć odsetek oszczędzonych jajników u dzieci w zmianach czynnościowych oraz łagodnych nowotworach jajnika. Popularyzacja tych badań może przyczynić się również do wcześniejszego wykrywania nowotworów złośliwych jajnika u dzieci. Autorka zwraca uwagę na brak precyzyjnej terminologii w opisanych seriach potworniaków niedojrzałych. Opisy serii tych guzów zawierają zestawione obok siebie terminy takie jak „potworniak złośliwy, potworniak z elementami złośliwymi czy potworniak o złośliwej naturze”. W połączeniu z trudnościami w ocenie histologicznej całości masy potworniaka mogącego zawierać mikroogniska komponenty złośliwej autorka wskazuje na trudności w ustaleniu pewnych wskazań do oszczędzania jajnika w każdym przypadku obecności potworniaka i konieczności chemioterapii w przypadku ognisk potworniaka niedojrzałego. Wady większości opisanych serii w tym własnego badania retrospektywnego mogą być wyeliminowane w prospektywnym badaniu wielośrodkowym. Piśmiennictwo jest reprezentatywne dla podjętego tematu badawczego, zawiera najnowsze pozycje jego większość zawiera się w ostatniej dekadzie, liczy odpowiednio 34 i 40 pozycji, z których kilka, ze zrozumiałych względów duplikuje się.

W dyskusji pracy eksperymentalnej autorka zwraca uwagę na opisany negatywny wpływ interwencji chirurgicznej na jajniku na jego funkcję, mogącej przyczynić się do zmniejszenia rezerwy jajnikowej i przedwczesnej menopauzy. Publikacje opisujące to zjawisko dotyczą głównie zmian patologicznych w jajniku w wieku reprodukcyjnym. Projekt własny doktorantki jest unikalny, dotyczy zdrowych jajników w wieku przedpokwitaniowym. Z oczywistych względów projekt ten został zrealizowany w modelu zwierzęcym. Kolejną wartością części eksperymentalnej jest analiza profili hormonalnych przed i po wykonaniu interwencji na jajniku i śledzenie ich w miarę upływu czasu. Doktorantka wykazała dużą staranność w próbie ujednoczenia wyników badania poprzez maksymalnie jednolity dobór populacji zwierząt oraz wykonywanie badań w podobnych fazach cyklu jajnikowego dobieranego oceną cytologiczną wymazów z pochwy. Krytyczna analiza ograniczeń własnych badań (różnice poziomu hormonów na etapie wyjściowym, nieregularność cykli u niektórych osobników, niedokładna ocena masy usuniętej tkanki jajnikowej) jest kolejnym przykładem dojrzałości badawczej doktorantki. Uzyskane dane mogą posłużyć jako wyznacznik płodności. Ostatecznym potwierdzeniem może być realna ocena płodności w oparciu o odsetek uzyskanych ciąży u szczurów, co autorka planuje ocenić w podobnym modelu badawczym. Świadczy to o dużym zainteresowaniu tym tematem również o planach i ambicjach doktorantki co do dalszego rozwoju naukowego. Autorka zgromadziła 38 pozycji aktualnego piśmiennictwa z renomowanych czasopism anglojęzycznych.

W końcowej ocenie merytorycznej chciałbym podkreślić trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność. Uzyskane rezultaty mogą mieć praktyczne znaczenia dla nauki i praktyki. Mogą być inspiracją dla innych badaczy, wstępem do wykonania badania wielośrodkowego i przyczynić się do zwiększenia odsetka oszczędzonych jajników u dzieci. Całość badań doktorantki może wnieść udział do wypracowania skutecznych i bezpiecznych metod diagnostyczno-terapeutycznych u dzieci i zrozumienia przedpokwitaniowej fizjologii i patologii jajnika.

Poza pojedynczym uchybieniem stylistyczno-redakcyjnym, które z obowiązku recenzenta wykazałem, rozprawę charakteryzuje poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna, zarówno w testach polskich jak i angielskich.

Od strony metodologicznej, założenia i cele prac sformułowane są precyzyjnie, metody i narzędzie badawcze są dobrane prawidłowo i umiejętnie wykorzystane przez doktorantkę.

Układ i struktura podziału rozdziałów treści rozprawy są poprawne, dobór literatury jest wzorowy i umiejętnie wykorzystany w tekstach.

Rozprawa doktorska zasługuje na **wyróżnienie**. Projekt badawczy jest oryginalny. Opracowanie statystyczne i ilustracja wyników zwłaszcza części eksperymentalnej były bardzo pracochłonne. Każdy analizowany element cechuje rzetelność badawcza. W zakresie stwierdzonych zależności, uzyskane wyniki i postawione wnioski mają rozwojowy charakter. Wreszcie wszystkie prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach o łącznym IF 6,725 i punktacji MNiSW/KBN 160.

Resumując, uważam, że dysertacja stanowi samodzielne rozwiązanie przez doktorantkę problemu naukowego, i wykazuje jej dużą wiedzę. Rozprawa doktorska **spełnia warunki określone w art. 13 ust 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DZ.U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.)**, dlatego wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o przyjęcie rozprawy doktorskiej Pani lek. Justyny Łuczak, pt. „**Guzy jajnika u dzieci – aspekty kliniczne i badania eksperymentalne**” z wyróżnieniem i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wojciech Ciszewski