

OCENA ROZPRAWY NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH
LEKARZA JOANNY B. WYSOCKIEJ PT.:
„ANALIZA WYBRANYCH CZYNNIKÓW MORFOLOGICZNYCH I
MOLEKULARNYCH U CHORYCH NA APOKRYNOWEGO RAKA PIERSI”.

Nowotwory złośliwe gruczołu piersiowego stanowią istotny z epidemiologicznego punktu widzenia problem zdrowotny. Jak wynika ze statystyk, mimo utrzymującego się trendu coraz większej liczby zachorowań wśród kobiet na te nowotwory liczba zgonów z tego powodu pozostaje na względnie stałym poziomie od lat. Stan ten jest wynikiem po części, coraz powszechniejszej wczesnej diagnostyki raka piersi, a co za tym idzie większych szans na przeżycie oraz coraz skuteczniejszych metod leczenia kobiet z tym nowotworem. To ostatnie, czyli postęp w zakresie metod terapeutycznych nie byłby możliwy, gdyby nie coraz lepsze zrozumienie biologii raka piersi. Zasadniczy przełom w tym zakresie dokonał się wraz z publikacjami wskazującymi na znaczenie klasyfikacji molekularnej raka piersi (Perou CM i wsp. Nature; 2000), co, jak podkreśla Doktorantka we wstępie swojej dysertacji: „zmieniło sposób postrzegania tego nowotworu jako jednorodnej choroby i pozwoliło na uporządkowanie typów tego nowotworu pod względem spodziewanej odpowiedzi na nowoczesne leki przeciwnowotworowe”. Można bez większej przesady powiedzieć, że od tego momentu nastąpiła era ukierunkowanego leczenia chorych na raka piersi. Wraz z coraz większym zainteresowaniem biologicznym zróżnicowaniem nowotworów złośliwych piersi, podjęto również próby zrewidowania dotychczasowych podziałów morfologicznych tego nowotworu. W wyniku tych starań w 2012 roku WHO przedstawiło nową klasyfikację, w której pojawiły się podtypy raka piersi dotychczas w niej nie występujące, jak rak z różnicowaniem apokrynowym. Ten rodzaj nowotworu wykazujący zarówno pewne szczególne cechy morfologiczne, ale przede wszystkim molekularne, jak znacznie częściej występująca ekspresja receptorów androgenowych przy niskiej lub nieobecnej ekspresji receptorów estrogenowych i progestagenowych oraz towarzyszącej częściej nadekspresji HER2 stał się przedmiotem badań doktorantki opisanych w niniejszej dysertacji.

Celem pracy była ocena charakterystyki morfologicznej i immunofenotypowej apokrynowego raka piersi oraz analiza czynników prognostycznych u chorych leczonych z powodu tego nowotworu.

Całość pracy obejmuje 80 stron w klasycznym układzie dla dysertacji naukowych i zawiera **Wstęp, Cel pracy, Metodykę, Materiał, Wyniki, ich Omówienie, Wnioski, Piśmiennictwo, Streszczenie, Wykaz Tabel i Rycin**. Umieszczenie na początku pracy wykazu skrótów jest pomocne i ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z treścią pracy.

Wstęp pracy jest zwięzły, zawiera krótki opis problemu klinicznego w odniesieniu do danych epidemiologicznych krajowych i lokalnych oraz charakterystykę najważniejszych markerów molekularnych charakteryzujących współcześnie różne podtypy raka piersi. Jest on uzupełniony o 2 tabele przedstawiające uproszczone klasyfikacje: morfologiczną nowotworów gruczołu piersiowego wg WHO z 2012 roku oraz molekularną naciekających raków piersi wg zaleceń Konsensusu Konferencji St. Gallen z 2015 roku. Dzięki takiemu podejściu czytelnik uzyskuje niezbędne podstawy do dalszego zrozumienia pracy, bez wrażenia, często spotykanego w dysertacjach mniej doświadczonych badaczy, nadmiaru przekazywanych informacji.

Badaniami objęto materiał pochodzący ostatecznie od 57 chorych leczonych w latach 1987-2010 w Centrum Onkologii – Instytucie im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie (COI-OK) z powodu apokrynowego raka piersi. Analiza danych pochodzących od tych chorych miała charakter retrospektywny. W rozdziale **Metodyka** Doktorantka szczegółowo opisuje warsztat zarówno oceny morfologicznej jak i immunohistochemicznej z podaniem bardzo dokładnie etapów procesu ponownego barwienia archiwalnych preparatów. Podobna uwaga dotyczy oceny molekularnej metodą FISH nadekspresji genu HER-2. Jakkolwiek trudno mi osobiście odnieść się do zastosowanych metod laboratoryjnych, to takie podejście podkreśla doświadczenie zawodowe Autorki pracy oraz daje poczucie czytelnikowi bardzo starannego jej przygotowania do przeprowadzenia zaplanowanego przez nią niniejszego badania. Rozdział **Metodyka** kończy się równie obszernym i przemyślanym opisem zastosowanych metod statystycznych do oceny wyników pracy. Należy podkreślić, że dobór metodyki analizy matematycznej uzyskanych wyników jest trafny.

W rozdziale **Materiał** zaprezentowano charakterystykę analizowanych chorych ze względu na ich wiek, kliniczne cechy guzów nowotworowych, wynikający z nich

stopień zaawansowania klinicznego choroby nowotworowej oraz metody zastosowanego leczenia wśród tych chorych. Doktorantka przedstawia w tym rozdziale również cechy morfologiczne raków piersi u tych chorych, takie jak: ocena histologiczna wielkości guza pierwotnego, obecność przerzutów w węzłach chłonnych, doszczętność resekcji w marginesie chirurgicznym, ocenę stopnia złośliwości histologicznej nowotworu czy w końcu obecność nacieku limfocytarnego w obrębie guza (ang. *tumour infiltrating lymphocytes*, TIL). Wyniki te zilustrowane zostały bardzo dobrymi przykładami wybranych cech morfologicznych apokrynowego raka piersi w analizowanej grupie chorych na końcu tego rozdziału. W tym miejscu należałoby zastanowić się jedynie, czy przedstawione wyniki ponownej oceny morfologicznej badanego materiału nie powinny rozpoczynać rozdziału pt. **Wyniki** (uwaga ta nie ma charakteru merytorycznego, a jedynie redakcyjny).

Efekty swoich badań Doktorantka przedstawiła w formie opisowej w rozdziale **Wyniki**, który został podzielony na 4 zasadnicze części:

- Charakterystyka immunohistochemiczna apokrynowego raka piersi.
- Analiza zależności cech morfologicznych i immunohistochemicznych.
- Analiza wyników leczenia (przeżyć całkowitych, czynników prognostycznych).
- Analiza niepowodzeń po leczeniu (nawroty odległe i lokoregionalne).

Należy podkreślić, że rozdział ten posiada dobre opracowanie graficzne w postaci 9 tabel i 2 rycin. Wyniki badań przedstawione są w bardzo starannej i czytelnej formie, co ułatwia znakomicie ich analizę.

Znacząca część rozdziału **Omówienie** zawiera porównania uzyskanych przez Doktorantkę wyników z doniesieniami innych badaczy. W pierwszej części omówiono częstość występowania apokrynowego raka piersi w materiale COI-OK na tle innych doniesień. Tutaj przede wszystkim zwrócić należałoby uwagę na fakt potwierdzenia 100% zgodności wcześniejszych rozpoznań raka apokrynowego z oznaczeniami wykonanymi samodzielnie przez Doktorantkę na potrzeby niniejszej pracy, w których wykorzystano współczesne, zaawansowane techniki immunohistochemiczne i molekularne. Zwłaszcza, że jak wykazano, ten typ nowotworu stanowi niewielki odsetek wszystkich rozpoznań nowotworów złośliwych piersi (jedynie 0,5%). Świadczy to o bardzo wysokim poziomie i tradycji Zakładu Diagnostyki Patomorfologicznej, w której pracuje Doktorantka. W kolejnej części podjęto szeroką dyskusję na tle doniesień literaturowych na temat charakterystyki klinicznej i morfologicznej

analizowanego materiału. Doktorantka wykazała wysoką częstość i zgodność występowania ekspresji receptorów androgenowych (AR) – 91% oraz jednoczesnej ekspresji białka GCDFP-15 – 94%, co potwierdza wysoką wartość tych oznaczeń w diagnostyce różnicowej. Rozdział ten kończy omówienie wyników leczenia chorych z rakiem apokrynowym w aspekcie nawrotów choroby i przeżyć całkowitych. W zakresie przeżyć całkowitych udało się wykazać w analizie wieloczynnikowej istotny wpływ stopnia zaawansowania miejscowego guza (pT3-4), obecności zatorów z komórek raka, wartości wskaźnika proliferacyjnego Ki-67 >20% oraz braku ekspresji białka GCDFP-15 na pogorszenie rokowania w przypadku tego nowotworu. Z kolei zastanawiający dość wysoki odsetek miejscowych nawrotów w analizowanych grupie chorych (14%), na którego wpływ, jak wykazano miała, między innymi zastosowana radioterapia skłania do refleksji, czy u chorych tych nie powinno się wdrożyć celowanego leczenia, odmiennego jak to, które mam miejsce w przypadku nowotworów piersi o innym biologicznym profilu. Ta część wyników i ich omówienia może mieć, wg mnie szczególne znaczenie, biorąc pod uwagę 10-letni okres obserwacji tych chorych, co jest dosyć unikalne wśród badań klinicznych na ten temat. Podsumowując tę bardzo dobrze i ciekawie napisaną część dysertacji, pragnę podkreślić, że omówienie wyników własnych w aspekcie przedstawionych danych literaturowych jest rzeczowe i kompetentne i świadczy o doskonałej znajomości przez Doktorantkę literatury tematu.

Dysertację kończy prezentacja 5 wniosków, które wynikają bezpośrednio z przeprowadzonych badań i odnoszą się dokładnie do założonych szczegółowych celów rozprawy. Autorce rozprawy udało się wykazać istotną rolę i zależność cech różnicowania apokrynowego, takich jak obecność AR i białka GDDFP-15 w tym typie nowotworu. Ponadto udało się wykazać, że istotną rolę w rokowaniu w tym typie nowotworu, poza klasycznymi czynnikami, takimi jak, wielkość guza pierwotnego czy obecność przerzutów do węzłów chłonnych, ma wielkość wskaźnika proliferacji Ki-67 na poziomie odcięcia 20%. Tego rodzaju wnioski mogą mieć bezpośrednie przełożenie na podejmowanie klinicznych decyzji wobec tych chorych.

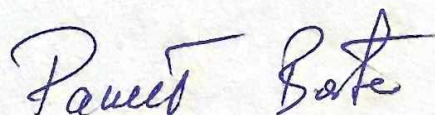
Piśmiennictwo wykorzystane w pracy zawiera 57 pozycji, w większości (49 pozycji) autorów zagranicznych, co świadczy o niewielkiej liczbie przeprowadzonych badań w tym temacie jak do tej pory. Powinno to być zachętą dla Doktorantki do jak najszybszego opublikowania wyników swojej pracy w tej sytuacji.

Rozprawa uzupełniona jest o 4-stronnicowe **Streszczenie** w języku polskim i angielskim, w którym Doktorantka dokonuje zwięzłego omówienia założeń, celów, wyników i wniosków swojej pracy.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji dysertacja dotyczy nowatorskiego problemu badawczego, zawiera jasno postawiony cel pracy, demonstrowa nowocześnie i profesjonalnie warsztat badawczy oraz prawidłowo przedstawia wyniki i wnioski z nich wynikające. Wnioski te, wynikające z pracy mają szansę bezpośrednio wpływać na praktykę kliniczną. Stąd, uważam, że rozprawa lekarza Joanny B. Wysockiej pt.: „Analiza wybranych czynników morfologicznych i molekularnych u chorych na apokrynowego raka piersi” spełnia wszelkie wymagania stawiane pracownikom na stopień doktora nauk medycznych. W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysockiej Radzie Naukowej Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie wniosek o dopuszczenie lekarza Joanny B. Wysockiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wartość merytoryczna pracy, jej bardzo staranne przygotowanie i potencjalne korzyści płynące z jej wyników dla praktyki klinicznej upoważniają mnie o przedstawienie Wysockiej Radzie Naukowej wniosku o jej wyróżnienie.

Kraków, dn. 08.06.2018r.



dr hab. n. med. Paweł Basta