

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Maksymiliana Kruczały pt.: "Wartość prognostyczna mutacji genu BRCA1 u chorych na raka piersi."

Rak gruczołu piersiowego stanowi wciąż jedno z największych wyzwań w chirurgii onkologicznej, a także onkologii klinicznej. Rozwój nauk podstawowych, poznanie zagadnień klinicznych tego nowotworu, oraz wdrożenie nowych technik diagnostycznych i operacyjnych, wciąż nie zapewnia sukcesu terapeutycznego w leczeniu raka piersi. Nowotwór ten jest klasyfikowany jako najczęstszy rak złośliwy wśród kobiet i jest jedną z głównych przyczyn zgonów kobiet na świecie. Szacuje się, że w 2018 roku odnotowano ponad 2 mln. nowych zachorowań, ze standaryzowanym współczynnikiem zachorowalności wynoszącym 43.5/100tys. W Polsce, rak gruczołu piersiowego jest najczęstszym nowotworem złośliwym i drugą przyczyną zgonów w populacji żeńskiej. W ostatnich latach notuje się średnio około 18 tys. nowych przypadków, ze standaryzowanym współczynnikiem zachorowalności 51.6/100tys. Ogółem, w ciągu ostatnich 30 lat zachorowalność na raka piersi w populacji kobiet polskich wzrosła ponad 2-krotnie. Zwraca uwagę, że zdecydowana większość nowotworów gruczołu piersiowego (ok. 80%) występuje po 50. roku życia, natomiast połowa jest diagnozowana między 50., a 65 rokiem życia. Wysoce niekorzystny trend zachorowalności na to schorzenie obserwuje się również w grupie pacjentek przed menopauzą (do 49 roku życia), a szacowany wzrost ryzyka zachorowania jest 1.7-krotnie wyższy, niż obserwowany 30 lat wcześniej.

Gwałtowny rozwój biologii molekularnej obserwowany w ostatnich latach, pozwolił na precyzyjne określenie podtypów raka gruczołu piersiowego, będących kluczowym uzupełnieniem podziałów histologicznych. Na podstawie wyżej wymienionych badań zdefiniowano poszczególne podtypy tego nowotworu: typ luminalny A, luminalny B, luminalny HER2 dodatni, nieluminalny HER2 dodatni, a także rak „trójjemny”, w których przynależność grupowa była determinowana ekspresją: receptora estrogenowego (ER), progesteronowego (PgR), HER2, Ki67.

Prowadząc rozważania nad nowotworami gruczołu piersiowego, nie można zapomnieć o jego genetycznej zależności związanej z licznymi mutacjami genetycznymi w genach BRCA-1, BRCA-2, a także PALB2, CHEK2 i RECQL. Analiza rodowodowo-kliniczna oraz zgodności

zachorowań wśród bliźniąt jednojajowych stała się przyczyną wnioskowania, że ponad 30% raków piersi i/lub jajnika jest silną predyspozycją genetyczną. Zaburzenia mutacyjne w genach BRCA, PALB2, CHEK2, RECQL implikują zaburzeniami sygnałów transdukcyjnych w komórce, a także w układach międzykomórkowych. Wspomniane zaburzenia, związane z przekazywaniem informacji komórkowej stanowią jedno z podstawowych źródeł modulujących replikację błędów genetycznych, które w konsekwencji skutkują powstaniem aneuploidalnych czy poliploidalnych linii komórkowych. Cechy rodowodowo-kliniczne charakterystyczne dla nowotworów związanych z wyżej wymienionymi genami wysokiego ryzyka zachorowania, stały się podstawą do opracowania kryteriów umożliwiających rozpoznanie rodzin należących do grup: Dziedzicznego raka piersi specyficznego narządowo; Dziedzicznego raka jajnika specyficznego narządowo; dziedzicznego raka piersi – jajnika.

W dostępnych danych literaturowych, prezentowane wyniki badań ostatnich lat wskazują na istotnie wyższe ryzyko zachorowania na nowotwór złośliwy u nosicielek mutacji BRCA. Powyższe fakty w praktyce klinicznej, stały się podstawą wdrożenia programów wczesnego wykrywania nowotworów złośliwych w rodzinach wysokiego, dziedzicznie uwarunkowanego ryzyka zachorowania na raka gruczołu piersiowego i raka jajnika. Nie bez znaczenia są także działania mające na celu zmniejszenie ryzyka zachorowania na te nowotwory (np.: doustna antykoncepcja, długotrwałe karmienie piersią, chemoprewencja Tamoksyfenem czy profilaktyczne usunięcie piersi i/lub jajników). W kontekście powyższych, określenie mutacji BRCA, a w szczególności BRCA1 stanowi istotny element planowania strategii nie tylko swoistych procedur zapobiegawczych wystąpieniu choroby, lecz także możliwości modyfikacji postępowania terapeutycznego, zarówno chirurgicznego jak i leczenia systemowego – chemioterapii czy hormonoterapii. Z tego względu, określenie wartości prognostycznej mutacji wydają się być zagadnieniem niezwykle istotnym nie tylko ze względu na wspomniany uprzednio plan terapeutyczny, lecz również z powodu ustalenia ewentualnego schematu badań kontrolnych po jego zakończeniu.

Podjęte przez doktoranta badania należy uznać zatem za aktualne i użyteczne klinicznie, a próba zdefiniowania wartości prognostycznej mutacji BRCA w grupie kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego za szczególnie ciekawe i uzasadnione.

Celem głównym przeprowadzonych badań była wspomniana próba określenia wartości prognostycznej mutacji genu BRCA1 u chorych na raka gruczołu piersiowego, zrealizowana poprzez cele aplikacyjne: analizę wpływu mutacji na czas przeżycia całkowitego,

wpływ mutacji na czas wolny od choroby, wpływ mutacji na częstość występowania nowotworów metachromatycznych, ocenę przyczyn niepowodzenia leczenia chorych na BRCA-zależnego raka piersi, oraz porównanie wyników leczenia chorych BRCA-zależnego raka piersi i chorych na trójjemnego raka gruczołu piersiowego bez mutacji. Cel pracy realizowano przez ocenę całkowitego czasu przeżycia (OS), czasu wolnego bez choroby (DFS), częstości występowania nowotworów synchronicznych i metachronicznych u chorych na raka piersi z mutacją BRCA1 i bez niej; a także analizę wpływu mutacji BRCA1 na OS i DFS w populacji badanej i kontrolnej grupy po uwzględnieniu znanych czynników prognostycznych.

Przedstawiona mi do recenzji praca ma typowy układ rozpraw doktorskich. Opracowanie liczy 92 strony, zawiera 16 tabel, 5 rycin, zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim. W pracy na jej początku wyróżniono spis treści, wykaz używanych w doktoracie skrótów, spis rycin i tabel, oraz 103 pozycje piśmiennictwa.

We wstępie doktorant przedstawia epidemiologię, czynniki prognostyczne i predykcyjne, oraz patomorfologię nowotworów gruczołu piersiowego. Dość szczegółowo omawia zasady i techniki diagnostyczne, a także leczenie w kontekście stopnia zaawansowania choroby nowotworowej – leczenie operacyjne i systemowe. Dość istotnym elementem tej części dysertacji jest przedstawienie zagadnień związanych z uwarunkowaniami genetycznymi raka piersi oraz możliwościami działań prewencyjnych związanych z mutacjami BRCA, CHEK2, PALB2, RECQL. Jest to dość dobry wstęp do realizacji zamierzeń badawczych – wspomnianej analizy wartości prognostycznej mutacji BRCA1 w tej grupie chorych. Wydaje się, że w tej części dysertacji należałoby wyeliminować sformułowania o charakterystyce „żargonowej” oraz pojawiające się skróty myślowe autora („zdiagnozowanych końcówką” – str. 9; „redukcja ryzyka pod wpływem skryningu mammograficznego” – str. 15; „gęste piersi” – str. 16; czy inne). Omawiając leczenie systemowe w podrozdziale 1.6.2.3, doktorant powołuje się na metaanalizę publikowaną 15 lat temu. Analiza baz medycznych pokazała kilka ciekawszych badań, które zdecydowanie bardziej podniosłyby atrakcyjność tej części rozważań naukowych. Dodatkowo podrozdział 1.6.2.5 „Leczenie systemowe – terapia anty-HER2” wymaga zdecydowanie większej systematyzacji opisu, przez co ten dość istotny rozdział definiujący jedną z ważniejszych terapii będzie bardziej czytelny.

W metodyce badań doktorant przedstawia charakterystykę grupy badanej, omawiając również krótko technikę oznaczania najczęściej występujących w populacji polskiej mutacji genu BRCA1 – „Multiplex PCR”, zasady pozyskiwania danych demograficzno-medycznych. W

opinii recenzenta ta część monografii wymaga zdecydowanie więcej systematyczności opisu w schemacie: protokołu badania, kryteria kwalifikujące do badania oraz kryteria wyłączenia, oraz wynikająca z tego charakterystyka grupy badanej i kontrolnej. Zdecydowanie dokładniejszego opisu wymaga grupa 5 pacjentek włączonych do grupy badanej, która pojawia się przy identyfikacji grupy kontrolnej. Recenzent rozumie zamysł dołączenia do grupy badanej 5 pacjentek wynikająca z analizy innego źródła dokumentacji medycznej, nie mniej precyzyjne zdefiniowanie tej grupy stanowi o przejrzystości prowadzenia dalszych analiz i wynikających z nich końcowych wniosków.

Ostatecznie, grupę badaną stanowiło 45 pacjentek oraz 58 pacjentek grupy kontrolnej, u których wykonano badania genetyczne pod kątem obecności jednej z trzech najczęściej występujących mutacji w genie BRCA1 w dwóch niezależnych próbkach krwi. Rozdział ten kończy dokładny opis zastosowanych metod analizy statystycznej wykorzystanych w niniejszej dysertacji.

W wyniku przeprowadzonych badań doktorant wykazał, że w populacji polskiej nosicielstwo mutacji BRCA1 nie stanowi czynnika prognostycznego, oraz nie wpływa na całkowity czas przeżycia (OS) i czas wolny od choroby (DFS) w grupie pacjentek z nowotworem gruczołu piersiowego. Dodatkowo stwierdził, iż nosicielstwo mutacji BRCA1 wiązało się z wysokim ryzykiem rozwoju nowotworu metachromatycznego. Analiza danych wykazała, że mutacja BRCA1 nie zwiększała ryzyka niepowodzenia terapii raka piersi o założeniu radykalnym, a dłuższy okres obserwacji wykazał dominację nowotworów metachromatycznych, która dotyczyła ponad połowy analizowanych chorych. W opinii doktoranta, biorąc pod uwagę wieloletnie przeżycia pacjentek z nowotworami gruczołu piersiowego, u nosicielek wyżej wymienionej mutacji raki metachromatyczne są większym zagrożeniem niż nowotwór pierwotny. Doktorant podkreślił, że główną przyczyną niepowodzenia pierwotnego leczenia choroby w obu analizowanych grupach była wznova raka gruczołu piersiowego o charakterze rozsianym. W grupie pacjentek z mutacją BRCA1 częściej jednak obserwowano wystąpienie drugiego, niezależnego nowotworu złośliwego, niż rozsiewu choroby pierwotnej. Na podstawie przeprowadzonych badań doktorant nie stwierdził różnic w przeżyciach całkowitych (OS) oraz czasu wolnego do wznowy choroby (DSF) między analizowanymi grupami, w kontekście uznanych czynników prognostycznych zdefiniowanych w raku gruczołu piersiowego.

W dyskusji Doktorant analizuje uzyskane wyniki i zestawia z dotychczasową wiedzą na ten temat z literatury. Istotną stroną tej części rozprawy doktorskiej są rozważania związane z analizą porównawczą grupy badanej w stosunku do grupy kontrolnej. Autor wskazuje na fakt różnic wiekowych w obu grupach, stwierdzając, iż grupa badana była młodsza co wiązało się z wcześniejszym występowaniem raków piersi u nosicielek mutacji. Dodatkowo, ważnym aspektem diskutowanym w niniejszej dysertacji doktorskiej, był fakt braku wpływu obecności mutacji BRCA u pacjentek na czas przeżycia całkowitego, oraz czasu wolnego od choroby. Autor wskazał, że istotnym czynnikiem determinującym oba parametry był stopień zaawansowania choroby IIIB oraz IV. Istotnym elementem poruszonym w dyskusji był również znamieny statystycznie wpływ ($p < 0.001$) obecności mutacji BRCA na częstość występowania nowotworów synchronicznych i metachronicznych.

Krytyczna, dokonana przez doktoranta ocena charakteru badania (badanie retrospektywne), oraz wpływu poznanych czynników prognostycznych i predykcyjnych determinujących możliwość uzyskanych wyników końcowych, świadczy o dobrym przygotowaniu warsztatowym i zrozumieniu naukowym, oraz stwarza przesłanki do dalszej kontynuacji tego tematu. Nie mniej, pewien niedosyt budzi przedstawiona dyskusja tak ciekawego, a przede wszystkim istotnego medycznie i naukowo tematu. Wydaje się, iż dość istotne, prezentowane wyniki niniejszej dysertacji doktorskiej mogły zostać przedyskutowane znacznie bardziej obszernie, szczególnie w kontekście najnowszych publikacji z ostatnich lat.

Pracę kończy pięć wniosków wynikających z przeprowadzonych badań, oraz trzy dodatkowe. W opinii recenzenta wydaje się, że trzy, wspomniane dodatkowe spostrzeżenia winny być rozbudowane i przedstawione przede wszystkim w dyskusji doktoratu, jako ciekawe uzupełnienie dokonanej analizy.

Pozwolę sobie wyrazić jeszcze raz nadzieję, że podjęte przez doktoranta badania, ciekawe i oryginalne, będą kontynuowane. Ważnym elementem, przemawiającym za kontynuacją podjętych badań jest konieczność zwiększenia badanej grupy i ewentualna ponowna analiza na większej populacji wyselekcjonowanych chorych z rakiem gruczołu piersiowego, ze szczególnym uwzględnieniem właściwego doboru grupy kontrolnej. Recenzent zdaje sobie sprawę, że wymaga to wieloletnich badań, ale trud może zaowocować cennymi, pożytecznymi klinicznie dokonaniem naukowymi i wartościowymi publikacjami. Wartości niniejszej dysertacji naukowej absolutnie nie umniejszają błędy edytorskie, które winny zostać poprawione przed oddaniem pracy do publikacji.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska **lek. Maksymiliana Kruczały pt.: "Wartość prognostyczna mutacji genu BRCA1 u chorych na raka piersi"** spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim i zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie o dopuszczenie lek. Maksymiliana Kruczały do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. Paweł Knapp
Kierownik
Uniwersyteckiego Centrum Onkologii
Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Białystok, 26.10.2020r.