

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych z dziedziny medycyna

lek. med. Magdaleny Kowalskiej

**pt.: „Analiza klinicznej przydatności oznaczania stężeń inhibiny B u chorych z
ziarniszcakiem jajnika oraz jej ocena jako czynnika prognostycznego na podstawie
obserwacji chorych leczonych w Centrum Onkologii w latach 1998-2018.”**

Promotor: dr hab. n. med. Piotr Sobiczewski, prof. NIO-PIB

Ziarniszcak należy do guzów wywodzących się ze sznurów płciowych i podścieliska jajnika. Częstość jego występowania w tej grupie szacuje się na ok 70%. Wśród wszystkich nowotworów złośliwych jajnika stanowi 2-5% przypadków. Guz ten zbudowany jest z komórek ziarnistych i tekalnych oraz elementów podścieliska. Z budową związana jest czynność hormonalna guza, głównie wydzielanie estrogenów. Poza nimi ziarniszcaki wydzielają inne hormony sterydowe, takie jak progesteron i androgeny oraz hormony peptydowe: AMH i inhibinę. Właśnie inhibina uznawana jest za najbardziej czuły i specyficzny marker w diagnostyce różnicowej i monitorowaniu leczenia ziarniszcaków.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. med. Magdaleny Kowalskiej pt.: „Analiza klinicznej przydatności oznaczania stężeń inhibiny B u chorych z ziarniszcakiem jajnika oraz jej ocena jako czynnika prognostycznego na podstawie obserwacji chorych leczonych w Centrum Onkologii w latach 1998-2018” nawiązuje do wymienionego aspektu badań nad peptydami jajnikowymi. Jest to 78 stronicowa monografia składająca się z następujących części: wstępu, opisów celu pracy, materiału i metodyki, analizy statystycznej, wyników, wniosków, dyskusji i spisu 103 pozycji piśmiennictwa stanowiących mocną podbudowę dysertacji. Dodatkowo Autorka zamieszcza streszczenie w języku polskim i angielskim, spis 6 tabel i 10 rycin oraz wykaz używanych skrótów.

We **wstępie** opisana została kliniczna i histopatologiczna charakterystyka ziarniszcaków. Ich niezbyt częste występowanie może być powodem trudności diagnostycznych skutkujących opóźnieniem leczenia choroby pierwotnej lub jej nawrotu, a w najgorszym wypadku doborze nieodpowiedniej metody terapii. Pokazną część wstępu stanowi opis diagnostyki markerowej stosowanej dla guzów jajnika z podkreśleniem różnic między ziarniszcakami, a najczęstszymi nowotworami jajnika, czyli guzami nabłonkowymi.

Inhibiny to grupa ok 30 glikoprotein wpływających na funkcjonowanie układu rozrodczego poprzez regulację przysadkowego wydzielania FSH i hamowanie wydzielania GnRH. Stężenie inhibiny w surowicy wzrasta istotnie u pacjentek z ziarniszcakami i guzami śluzowymi jajnika. Wzrost stężenia inhibiny B może wyprzedzać kliniczne rozpoznanie nawrotu choroby o kilka do kilkunastu miesięcy.

Uwzględniając opisane wyżej aspekty, Autorka przedstawiła następujące **cele** pracy:

1. Określenie klinicznej przydatności oznaczeń stężenia inhibiny B w rozpoznawaniu nawrotów choroby.
2. Wyznaczenie zależności pomiędzy wartościami inhibiny B a cechami kliniczno-patologicznymi u chorych na ziarniszcza.
3. Ocenę inhibiny B jako markera wspomagającego metody obrazowania w wykrywaniu późnych nawrotów choroby.
4. Ocenę wartości predykcyjnej inhibiny B dla rozpoznania wznowy u chorych na ziarniszcza jajnika.
5. Ocenę wartości prognostycznej inhibiny B dla zgonu u chorych na ziarniszcza jajnika.

Material i metoda. Przedstawienie grupy badanej oraz zastosowanych metod badawczych jest wyczerpujące. Badanie polegało na retrospektywnej analizie 186 chorych z rozpoznaniem ziarniszczakiem jajnika, w tym 183 (98%) chore z ziarniszczaakiem typu dorosłych i 3 (1.6%) chore z postacią młodzieńczą. Większość pacjentek (182 przypadki) operowanych było poza ośrodkiem, w którym prowadzono badanie i z tego powodu rozpoznanie histopatologiczne potwierdzono w Zakładzie Patomorfologii Centrum Onkologii. Nawroty choroby były leczone operacyjnie i systemowo w Centrum Onkologii w Warszawie. Ze względu na dostępność wyników oznaczeń inhibiny B w dokumentacji źródłowej ostatecznie do badania włączono 139 chorych, u których pełne dane pozwoliły na analizę profilową. W tej grupie znalazło się 114 (82%) pacjentek bez wznowy ziarniszczaka i 25 (18%) z nawrotem nowotworu.

Autorka szczegółowo opisuje sposób doboru oznaczeń inhibiny B w czasie obserwacji. Za podstawę do analizy wybrała oznaczenia wykonane co 6 miesięcy w przedziale 18 miesięcy przed i po nawrocie. U pacjentek bez nawrotu choroby uwzględniono 6 oznaczeń wykonanych nie później niż 36 miesięcy od pierwszego pomiaru (wykonanego po operacji). Do analizy profilowej wykorzystano uogólniony model liniowy dla wielokrotnych pomiarów.

Dodatkowo uwzględniono następujące dane kliniczne: wiek pacjentki, stopień zaawansowania nowotworu wg FIGO (klasyfikacja z roku 1988 wynikała w okresie obserwacji), rozpoznanie histopatologiczne, zakres operacji, obecność wodobrzusza i rodzaj leczenia uzupełniającego.

Oznaczenie stężenia inhibiny B wykonano dwukrotnie dla każdego pobrania z zastosowaniem metody ELISA.

W analizie statystycznej stosowano metody opisowe, analizę zmiennych o rozkładzie normalnym oraz analizę wieloczynnikową. Za poziom istotności przyjęto $p < 0.05$.

Wyniki. Omówienie wyników badań Autorka rozpoczyna od przedstawienia rodzajów zabiegów operacyjnych wykonanych w grupie 139 pacjentek. Operacje te stanowiły podstawę do ustalenia

stopnia klinicznego zaawansowania nowotworu. Największą grupę chorych stanowiły pacjentki z ziarniszcakiem w stopniu IA (101 chorych). Najwyższym stopniem zaawansowania w badanej grupie był stopień IIIB wg FIGO 1988. Po leczeniu operacyjnym 39 pacjentek poddano obserwacji, u 27 zastosowano chemioterapię, a u 73 radioterapię. Jak podaje Autorka średnia arytmetyczna obserwacji wynosiła 212,7 miesiąca.

U 25 (18%) pacjentek doszło do nawrotu choroby. Autorka nie znajduje różnic w zakresie zabiegów operacyjnych w grupach chorych z i bez wznowy nowotworu. Dodatkowo analizuje rozkład występowania wznowy w zależności od stopnia klinicznego zaawansowania nowotworu. Nie znajduje różnic statystycznych (liczbowe różnice są opisywane). Wyjątek stanowi stopień IA. Tutaj istotną przewagę mają chore bez nawrotu choroby. Większość pacjentek otrzymała leczenie adjuwantowe. Bez leczenia pozostało 30 chorych w grupie bez wznowy i 9 chorych w grupie ze wznową (26.3% vs 36%). Kończąc analizę części poświęconej występowaniu nawrotu Autorka stwierdza, że w grupie ze wznową było statystycznie więcej pacjentek w wyższym stopniu zaawansowania w porównaniu z pacjentkami bez wznowy i u tych chorych stosowano częściej leczenie uzupełniające w postaci chemioterapii.

Analizując stężenia inhibiny B Autorka nie odnotowała znamiennych różnic w średnich stężeniach peptydu w okresie 18-12 miesięcy przed rozpoznaniem wznowy w obu badanych grupach. Istotne różnice pojawiają się przedziałach 12-6 i 6-0 miesięcy przed rozpoznaniem nawrotu choroby ($p < 0.001$). Różnice w średnich stężeniach inhibiny B utrzymywały się między oboma grupami również w odstępach 0-6, 6-12, i 12-18 miesięcy po rozpoznaniu nawrotu ($p < 0.001$).

W analizie wykazano, że stężenie inhibiny B ma największą wartość predykcyjną dla wystąpienia wznowy ziarniszczaka w przedziale 6-0 miesięcy przed jej rozpoznaniem. Wykazano również, że stężenie inhibiny B jest niezależnym czynnikiem predykcyjnym dla wystąpienia nawrotu. Był to również jedyny, wśród badanych w analizie jednoczynnikowej, parametr predykcyjny dla zgonu ($p = 0.03$).

Innymi badanymi czynnikami były: stopień FIGO, obecność wodobrzusza, średnica guza. Silny trend wskazujący, iż stężenie inhibiny B w przedziale 6-0 miesięcy przed nawrotem ma wartość prognostyczną ($p = 0.055$) wykazano również a analizie wielkoczynnikowej.

Wyznaczono punkt odcięcia dla ryzyka wznowy na przy stężeniu 25pg/ml. Stężenie inhibiny B powyżej 132pg/ml uznano za czynnik związany z gorszym rokowaniem ($p < 0.01$).

Dyskusja. Jest to mocna strona pracy. Opiera się na dobrze dobranych pozycjach piśmiennictwa. Wykazuje słuszność idei przyświecającej Autorce w zaplanowaniu badania. Odniesienia do piśmiennictwa potwierdzają część z uzyskanych w badaniu wyników. Elementem wyróżniającym badanie Autorki, a nie opisywanym we wcześniejszych publikacjach, jest potwierdzenie wartości predykcyjnej stężenia inhibiny B dla pojawienia się nawrotu choroby w przedziale 6-0 miesięcy przed rozpoznaniem z wyznaczeniem progu odcięcia przy stężeniu 25 pg/ml. Ważne jest również wykazanie, że stężenie inhibiny B ma wartość predykcyjną zgonu.

Autorka odnotowuje również ograniczenia jakie napotykają badacze przy analizie tego tematu, ze szczególnym uwzględnieniem niewielkich liczebności grup. Na tym tle omawiana praca wyróżnia się pod względem liczebności grupy i czasu obserwacji.

Wnioski. Uzyskane wyniki pozwoliły Autorce na przedstawienie następujących wniosków.

1. Stężenie inhibiny B jest wyższe u pacjentek ze wznową w porównaniu z grupą bez wznowy.
2. Stężenie inhibiny B ma największą zdolność predykcyjną dla wystąpienia wznowy w przedziale 6-0 miesięcy przed jej rozpoznaniem.
3. Stężenie inhibiny B jest niezależnym czynnikiem predykcyjnym dla wystąpienia wznowy.
4. Stwierdzono silny trend w kierunku silnego czynnika rokowniczego dla zgonu w przedziale 6-0 miesięcy przed wznową.
5. Stężenie inhibiny B ma największą zdolność predykcyjną dla wystąpienia wznowy i zgonu w porównaniu z innymi parametrami klinicznymi takimi jak: stopień zaawansowania FIGO, obecność wodobrzusza i średnica guza.
6. Punkt odcięcia dla ryzyka wznowy stwierdzono przy stężeniu 25pg/ml.
7. Stężenie inhibiny B powyżej 132 pg/ml jest związane z gorszym rokowaniem.

Uwagi recenzenta. Temat podjęty przez lek. med. Magdalenę Kowalską w jej rozprawie na stopień doktora nauk medycznych jest ciekawy i do tej pory mało poznany. Wartość badania jest znacząca ze względu na to, że w dotychczasowym piśmiennictwie prace na temat inhibiny B jako czynnika prognostycznego nawrotu i zgonu nie jest częsta i opiera się na małych grupach chorych. W związku z tym pole do badań wydaje się bardzo szerokie, co jednak nie stanowi ułatwienia w ich projektowaniu i prowadzeniu.

Pierwszym i kluczowym dla badania wynikiem jest potwierdzenie, że stężenie inhibiny B ma największą wartość predykcyjną dla wystąpienia wznowy ziarniszcza w przedziale 6-0 miesięcy przed jej rozpoznaniem oraz to, że inhibina B jest niezależnym czynnikiem predykcyjnym dla wystąpienia nawrotu. Ważne wydaje się wyznaczenie punktu odcięcia dla ryzyka wznowy stwierdzono przy stężeniu inhibiny B 25pg/ml.

Kolejna, płynąca z badania, ważna informacja to, potwierdzenie roli inhibiny B jako czynnika predykcyjnego dla zgonu w analizie jednoczynnikowej. Autorka stwierdza również, że w analizie wieloczynnikowej wykazano silny trend wskazujący, iż stężenie inhibiny B w przedziale 6-0 miesięcy przed nawrotem ma wartość prognostyczną. Przypuszczam, że słowo trend rozumiane jest jedynie jako tendencja co, sugeruje $p\text{-value} = 0.055$, a nie jako istotny statystycznie wynik.

W rozdziale „Obserwacje odległe” Autorka podaje odsetki zgonów w grupach bez i ze wznową choroby. Wydaje mi się, że ze względu na czas obserwacji (20 lat) należało poza ogólnymi odsetkami, podać odsetki zgonów wywołanych chorobą (disease specific survival).

Znanym powszechnie jest również fakt, że chore z nawrotem choroby mają wyższe ryzyko zgonu niż w grupie bez nawrotu. Jeśli już Autorka zdecydowała się na podanie takiej informacji to, dobrze byłoby podać czasy przeżycia dla obu analizowanych grup.

W rozdziale „Analiza ryzyka wznowy” Autorka analizuje następujące parametry jako czynniki ryzyka wznowy: stopień FIGO, stężenie inhibiny B, obecność wodobrzusza i wielkość guza. Zarówno w analizie jedno, jak i wieloczynnikowej jedynym parametrem predykcyjnym dla wystąpienia wznowy okazało się stężenie inhibiny B. Jest to wynik odmienny od opisywanych w wielu publikacjach, gdzie za taki czynnik uznawany jest stopień FIGO jak również wielkość guza. W rozdziale 7.2 sama Autorka pisze, w ostatnim akapicie, że w grupie pacjentek ze wznową więcej było chorych o wyższym stopniu zaawansowania. We wnioskach łagodzi swoje stwierdzenie pisząc, że stężenie inhibiny B ma największą (nie jedyną) zdolność predykcyjną w porównaniu z innymi parametrami. Chyba przy tej wersji wniosku należałoby pozostać.

Być może jedną z przyczyn uzyskanych wyników jest fakt, że leczono uzupełniającą pacjentki, u których w większości rozpoznano stopień I wg FIGO. Obecnie u chorych w stopniach IA-IC1 odstępujemy od leczenia uzupełniającego, o czym Autorka pisze we wstępie. Stąd pytanie, czy mamy tu do czynienia jedynie ze zjawiskiem nazwanym over-treatment, bez wpływu na rokowanie, czy jednak leczenie miało wpływ na występowanie nawrotów (głównie w aspekcie stopni IA-IC)

Jako jeden z celów badania Autorka wymienia: ocenę inhibiny B jako markera wspomagającego metody obrazowania w wykrywaniu późnych nawrotów choroby. Z dotychczasowych badań wiadomo, że wzrost stężenia inhibiny B może wyprzedzić wznowę obrazową o kilka, kilkanaście miesięcy. Zabrakło rozwinięcia tego tematu. Może będzie to przyczynek do kolejnych badań uwzględniających obrazowanie w TK, MRI (zwłaszcza parametrów dyfuzji i perfuzji) i PET-CT.

Oczywiście, wszystkie uwagi powinny być rozpatrywane w aspekcie bardzo długiego okresu obserwacji, co samo w sobie, stanowi mocny punkt badania. Jednak, jak wspomniałem we wstępie, nie ułatwia prowadzenia analizy. Trzeba również uwzględnić fakt, że w tym czasie zmieniły się standardy leczenia ziarnistczaka.

Odnosząc się do układu pracy uważam, że rozdziały 7.1 „Charakterystyka grupy badanie” i 7.2 „Charakterystyka grup – pacjentek bez wznowy i ze wznową” powinny być umieszczone w części dotyczącej materiału i metody.

Do błędów edytorskich zaliczam pomyłki w oznaczeniu rozdziałów takie jak występowanie po rozdziale 7.3 rozdziału 7.5, a po nim 4.5.

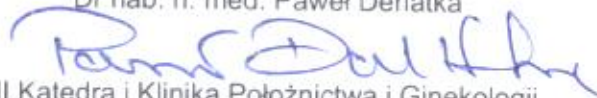
Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska, pt., „Analiza klinicznej przydatności oznaczania stężeń inhibiny B u chorych z ziarnistczakiem jajnika oraz jej ocena jako czynnika prognostycznego na

podstawie obserwacji chorych leczonych w Centrum Onkologii w latach 1998-2018" jest dobrze zaplanowanym i wykonanym projektem badawczym. Na uwagę zasługuje ciekawy dobór tematu, oraz połączenie tematyki klinicznej z nowoczesną diagnostyką biochemiczną. Wyniki badania zostały wyczerpująco omówione w odniesieniu do dotychczasowej literatury. Postawione cele znalazły swoje odzwierciedlenie we wnioskach. Wymienione wyżej uwagi recenzenta w niczym nie umniejszają wartości pracy. Są one propozycją na rozwinięcie podjętego tematu.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa na stopień doktora nauk medycznych w dziedzinie medycyny spełnia moim zdaniem warunki stawiane pracom doktorskim w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016, poz. 882 z późniejszymi zmianami).

Wobec powyższego zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie -Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie lek. med. Magdaleny Kowalskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Paweł Derlatka



II Katedra i Klinika Położnictwa i Ginekologii

Warszawski Uniwersytet Medyczny