

Dr hab. n. med. Barbara Radecka, prof. UO^{1,2} Opole, 24 lipca 2023 r.

¹Klinika Onkologii, Instytut Nauk Medycznych

Uniwersytet Opolski w Opolu

²Klinika Onkologii z Odeinkiem Dziennym

Opolskie Centrum Onkologii im. Prof. Tadeusza Koszarowskiego

Recenzja rozprawy doktorskiej lekarz Elżbiety Brewczyńskiej

Tytuł rozprawy:

**ROLA PODTYPU BIOLOGICZNEGO
PRZEDINWAZYJNEGO PRZEWODOWEGO RAKA PIERSI
(DUCTAL CARCINOMA IN SITU, DCIS)
W PRZEWIDYWANIU RYZYKA
NAWROTU, CZASU DO NAWROTU I CHARAKTERU WZNOWY
U CHORYCH LECZONYCH Z ZAOSZCZĘDZENIEM PIERSI**

Ocena wyboru tematu

Postęp w zakresie obrazowania piersi notowany w ostatnim półwieczu, upowszechnienie badań przesiewowych w kierunku wczesnego wykrywania raka oraz rosnąca świadomość społeczna skutkują znaczącym wzrostem rozpoznań przedinwazyjnego przewodowego raka piersi (*ductal carcinoma in situ*, DCIS). Obecnie, w krajach rozwiniętych, DCIS stanowi około 20%-25% raków piersi wykrytych podczas przesiewowej mammografii. Na naszych oczach zatem powstaje nowy problem medyczny.

Przyjmuje się, iż DCIS jest heterogenną jednostką chorobową, zróżnicowaną klinicznie, radiologicznie, histologicznie oraz molekularnie. Przebieg kliniczny jest trudny do przewidzenia i prezentuje szerokie spektrum - od postaci indolentnej, bez istotnego wpływu na

dobrostan aż do progresji do postaci inwazyjnej, niepewnie rokującej i wymagającej intensywnego leczenia. Współczesna medycyna dysponuje szeregiem możliwych do zastosowania sposobów leczenia DCIS (chirurgia, radioterapia, hormonoterapia i skojarzenia tych metod), cierpi jednak na niedostatek klinicznie użytecznych narzędzi do oceny rokowania i stratyfikacji chorych do optymalnego leczenia. Celem takiej stratyfikacji jest z jednej strony zastosowanie odpowiednio intensywnego leczenia, aby uchronić chore przed nawrotem w postaci raka inwazyjnego, a z drugiej strony zastosowanie leczenia mniej intensywnego, aby ograniczyć ryzyko niepożądanych działań jatrogennych.

Szczególny nacisk w badaniach nad DCIS kładzie na definicję chorych o niskim (tj. nie przekraczającym 10% w 10-letniej obserwacji) ryzyku nawrotu miejscowego, u których to chorych można bezpiecznie odstąpić od radioterapii po miejscowym wycięciu pierwotnego ogniska. Dotychczasowe próby tworzenia indeksów prognostycznych, opierających się na tradycyjnych, histoklinicznych czynnikach ryzyka nie pozwoliły na stworzenie narzędzia do zastosowania w codziennej praktyce.

W tym kontekście, wybór tematu prowadzonych przez Doktorantkę, Elżbietę Brewczyńską, badań zasługuje na szczególne uznanie. Doktorantka podjęła temat niezwykle ważny, aktualny, potrzebny i niedostatecznie opisany. Wobec przedstawionych powyżej argumentów zasadne jest sprawdzenie prognostycznej wartości podtypu biologicznego DCIS, istnieje bowiem przypuszczenie, że analogicznie do inwazyjnego raka piersi, podtyp może dostarczyć dodatkowych informacji odnośnie biologii i rokowania DCIS. Istotna jest również powszechna dostępność takiego markera określanego na podstawie prostych i niedroгих testów immunohistochemicznych. Co więcej, być może połączenie czynników histoklinicznych z podtypem biologicznym DCIS pozwoli zdefiniować chorych bardzo niskiego ryzyka nawrotu, u których można bezpiecznie odstąpić od radioterapii.

Ocena formalna

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma układ typowy dla tego typu opracowań. Obejmuje 113 stron maszynopisu, z tradycyjnym podziałem na wstęp, cele pracy, materiał i metodykę badań, wyniki, dyskusję, wnioski oraz wykaz piśmiennictwa. Zawarto również streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spisy tabel i rycin. Na stronie 35 Autorka podaje, że uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej NIO-BIP na przeprowadzenie badania, jednak nie podaje dodatkowych informacji (jaki numer zgody, kiedy wydano). Recenzentka nie

poddaje w wątpliwość fakt uzyskania zgody, jednak podkreśla, że podanie wspomnianych informacji lub nawet załączanie do manuskryptu kopii takiego dokumentu jest dobrym obyczajem.

Ocena merytoryczna

We wstępie Autorka omawia w sposób niezwykle uporządkowany zagadnienie DCIS. Przytacza dane epidemiologiczne oraz wyjaśnia przyczyny wzrostu częstości występowania tej szczególnej sytuacji klinicznej. Doktorantka podkreśla, że w Polsce w ostatnim dwudziestoleciu odnotowano piętnastokrotny wzrost zachorowań (z 80 w 1999 roku do ponad 1200 w 2019 roku).

Dalsza część tego rozdziału to niezwykle staranny przegląd aktualnie obowiązujących standardów leczenia chorych na DCIS. Autorka wyszczególnia możliwe do zastosowania metody leczenia miejscowego (różne odmiany mastektomii oraz miejscowe wycięcie, skojarzone lub nie z napromienianiem pozostawionej części piersi) i systemowego (uzupełniającą hormonoterapię). Doktorantka nie pomija również opcji obserwacji bez leczenia chirurgicznego chorych na DCIS o niskim ryzyku nawrotu, jednak, jak słusznie zauważa jest to metoda eksperymentalna. Przesłanką do takiego postępowania jest chęć uniknięcia nadmiernego leczenia w przypadku indolentnej choroby, która może nie ulegać progresji w czasie całego życia kobiety. Brak jednak narzędzi diagnostycznych do identyfikowania chorych, u których takie postępowanie byłoby bezpieczne, a jednocześnie, jak słusznie podkreśla Autorka, u niektórych chorych ryzyko nawrotu w postaci inwazyjnego raka może pozostawać wysokie nawet po wielu latach obserwacji.

Następnie Autorka przedstawia znaczenie histoklinicznych i molekularnych czynników ryzyka nawrotu DCIS, indeksów prognostycznych oraz dotychczasowe próby definiowania chorych niskiego ryzyka nawrotu na podstawie takich czynników.

Całość tego rozdziału ma niezwykle wysoką wartość poznawczą i godna jest odrębnej publikacji o charakterze przeglądu piśmiennictwa.

Drobna uwaga, raczej natury formalnej, a nie merytorycznej dotyczy znacznej objętości (niemal 30 stron) tej części pracy. Zapewne jest to wynikiem dokładnego omawiania poszczególnych przywoływanych przez Autorkę badań (konstrukcja, liczebność grupy) jak również obszernego omówienia znaczenia podtypu biologicznego raka w chorobie inwazyjnej.

Łow

Doktorantka sformułowała dwa cele swojej pracy badawczej i jest to ocena znaczenia podtypu biologicznego pierwotnego DCIS w przewidywaniu ryzyka nawrotu (wznowa i/lub przerzuty odległe), czasu do nawrotu i charakteru nawrotu u chorych leczonych z zaoszczędzeniem piersi oraz poszukiwanie grupy bardzo niskiego (<10% w ciągu 10 lat obserwacji) ryzyka nawrotu, z wykorzystaniem podtypu biologicznego lub poszczególnych elementów ten podtyp definiujących (ER, PR, HER2, Ki-67).

W rozdziale Pacjenci i Metody w przejrzysty sposób opisano grupę chorych oraz analizowane zmienne. Doktorantka poddała retrospektywnej analizie losy 400 kolejnych chorych na DCIS, leczonych z zaoszczędzeniem piersi w NIO-PIB w Warszawie w latach 1996-2011. Spośród 400 chorych, u 241 wycięcie miejscowe DCIS skojarzono z uzupełniającym napromienianiem piersi. Żadna chora w całej badanej grupie nie była poddana uzupełniającej hormonoterapii. Mediana czasu obserwacji wyniosła 15 lat (zakres 1 - 27 lat). Oceniono przy pomocy testów immunohistochemicznych podtyp biologiczny pierwotnych DCIS i nawrotów. Obliczono przeżycie wolne od nawrotu, przeżycie całkowite i odsetki nawrotów (w tym wznów w piersi o charakterze raka *in situ* i/lub raka inwazyjnego i/lub przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych). Następnie oceniono wpływ podtypu biologicznego na ryzyko nawrotu z wykorzystaniem modelu regresji uwzględniającego 10 zmiennych (wiek, wymiar DCIS, stopień złośliwości jądrowej, obecność martwicy typu *comedo*, metoda rozpoznania DCIS, margines tkanek zdrowych wokół wyciętej zmiany, podtyp biologiczny DCIS, ekspresja receptora ER, ekspresja receptora HER2 i poziom białka Ki-67). W ostatnim etapie zdefiniowano trzy grupy niskiego ryzyka nawrotu wykorzystując wiek, wielkość DCIS i poziom Ki-67 (traktowany jako surogat komercyjnego testu genetycznego Oncotype DX DCIS) w celu sprawdzenia, czy możliwe jest ustalenie grupy bardzo dobrego rokowania, w której możliwe byłoby bezpieczne odstępianie od radioterapii po miejscowym wycięciu DCIS.

Zwraca uwagę troska o rzetelność w ocenie nawrotów i ich odróżnienie od drugiego, pierwotnego raka tej samej piersi. W tym celu wszystkie zdjęcia mammograficzne sprzed leczenia pierwotnego oraz po wykryciu nawrotu były w trakcie pracy badawczej ponownie sprawdzane przez radiologa.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy pomocy pakietu statystycznego IBM SPSS Statistics 23.0 oraz języka i środowiska do obliczeń statystycznych R.

Wyniki zostały przedstawione w sposób zwięzły, z odpowiednim ich zestawieniem w postaci 14 tabel i 24 rycin. Doktorantka oceniła prawdopodobieństwo przeżycia bezobjawowego i całkowitego u chorych po wyłącznym wycięciu pierwotnego DCIS oraz

wycięciu skojarzonym z radioterapią dla 5 lat, 10 lat, 15 lat i 20 lat, wskazując, że różnice pomiędzy grupami nie były istotne (odpowiednio $p=0,016$ i $p=0,057$). Na stronie 42 podano, iż prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od nawrotu w całej badanej grupie 400 chorych dla 5 lat wynosiło 99%, podczas gdy w podgrupach chorych napromienianych i nie – odpowiednio 90% i 87%. Dokonana przez Recenzentkę ocena wykresu krzywej przeżycia sugeruje, iż prawidłowa wartość to nie 99%, a raczej 89%. Jest to najprawdopodobniej zwyczajny chochlik, aczkolwiek wartość 99% pojawia się także w streszczeniu pracy na stronie 88.

Autorka wykazała, że ryzyko skumulowane ryzyko nawrotu (miejscowego i/lub przerzutów do węzłów chłonnych) po leczeniu oszczędzającym i wycięciu miejscowym po 5, 10 i 15 latach wynosiło odpowiednio 8.4%, 12.8% i 20% a po wycięciu miejscowym wynosiło odpowiednio 7%, 17% i 21%. Doktorantka nie odnotowała istotnych różnic pomiędzy obiema grupami chorych ($p=0,63$). Nie wykazała również prognostycznego znaczenia podtypu biologicznego pierwotnego DCIS oznaczanego metodą immunohistochemiczną w ocenie ryzyka nawrotu. Charakterystyka nawrotów została szczegółowo przedstawiona w tabeli 6 na stronie 48, szkoda jednak, że w tekście nie skomentowano tej tabeli.

Ważnym i posiadającym praktyczne implikacje jest również wykazanie przez Doktorantkę, że ryzyko zdarzeń u chorych na DCIS utrzymuje się w ciągu 20 lat obserwacji i nie osiąga *plateau*. Po rozpoznaniu i leczeniu DCIS chore są przez całe życie narażone na ryzyko nawrotu miejscowego, miejscowo-regionalnego i drugiego, pierwotnego raka tej samej piersi.

W toku badania uwagę Doktorantki zwróciły dwa piki nawrotów, niezależnie od podtypu biologicznego: pierwszy w okresie pierwszych 6 lat od zakończenia pierwotnego leczenia i drugi, w trakcie drugiej dekady obserwacji. Doktorantka poddała wnikliwej analizie przypadki nawrotów w łożu oraz w innym kwadrancie piersi sugerując, iż nawroty w postaci DCIS lub raka inwazyjnego w innym kwadrancie piersi niż pierwotnie leczony z dużym prawdopodobieństwem mogły być drugim pierwotnym rakiem tej samej piersi. Rozróżnienie pomiędzy nawrotem a drugim rakiem piersi ma znaczenie w ocenie powodzenia leczenia pierwotnego DCIS.

W analizie wieloczynnikowej, spośród 10 potencjalnych histoklinicznych czynników, jedynie ekspresja białka Ki-67 powyżej 15% okazała się markerem wysokiego ryzyka nawrotu ($p=0,005$).

W podgrupie chorych leczonych wyłącznie chirurgicznie (bez radioterapii) na podstawie wartości Ki-67, wielkości pierwotnego guza oraz wieku chorej, wyselekcjonowano trzy grupy, poszukując grupy bardzo niskiego ryzyka (<10% w ciągu 10 lat), która mogłaby bezpiecznie uniknąć radioterapii. Wykazano, iż warunek taki spełniają jedynie chore, u których jednocześnie stwierdza się Ki-67<15 i guz≤1cm i wiek≥50. Jednak, jak podkreśla Doktorantka w drugiej dekadzie obserwacji nadal odnotowywano nawroty.

Dyskusja jest poprowadzona prawidłowo i stanowi znakomity przegląd dostępnego piśmiennictwa na temat diagnostyki i leczenia chorych na DCIS. Autorka porównuje wyniki swoich badań z danymi z piśmiennictwa, w tym z publikacjami pochodzącymi z rodzimej kliniki.

Wnioski są sformułowane prawidłowo, odpowiadają założonym celom i niosą istotne przesłanie praktyczne. Doktorantka wnioskuje bowiem, iż oznaczanie białka Ki-67, jako biologicznego markera prognostycznego, w przypadkach wątpliwych co do rokowania, może pomóc w podjęciu decyzji o wdrożeniu lub rezygnacji z radioterapii uzupełniającej wycięcie pierwotnego ogniska DCIS.

Ocena piśmiennictwa

Całość pracy opatrzona jest imponującą liczbą 197 pozycji piśmiennictwa, z których zdecydowana większość została opublikowana w międzynarodowych, recenzowanych czasopismach. W dużej części są to prace opublikowane w ostatnim dziesięcioleciu. Dobór piśmiennictwa świadczy o znajomości literatury przedmiotu, umiejętności korzystania z licznych źródeł i docenienia publikacji rodzimych. Nie w każdym przypadku podano cyfrowy identyfikator pracy (doi), także w odniesieniu do prac, którym taki identyfikator nadano. Odnotowano pewną dowolność w sposobie cytowania (liczba podanych autorów, stosowanie znaków interpunkcyjnych i odstępów). Zgodnie z przyjętymi zasadami publikacje należy cytować w jednolity sposób i zgodnie z kolejnością pojawiania się w tekście lub alfabetycznie. Stwierdzono niewłaściwe przywoływanie w tekście dysertacji. Na stronie 83 Doktorantka opisując badania test Oncotype DX DCIS przywołuje pozycję 159, podczas, gdy mowa jest tutaj o pracy wylistowanej na pozycji 110.

Tego typu niezgodności są częste podczas tworzenia obszernych manuskryptów i zazwyczaj nie umniejszają one wartości merytorycznej pracy, jednak mogą obniżać wartość poznawczą, bowiem uważnemu czytelnikowi utrudniają lekturę. Przydatnym jest podczas

Dawid

tworzenia manuskryptu stosowanie przypisów dolnych lub końcowych, co pomaga uporządkować piśmiennictwo i pozwala uniknąć takich pomyłek.

Ocena poprawności językowej

Dysertacja jest napisana poprawnym językiem z wykorzystaniem prawidłowej stylistyki i terminologii. Wartość merytoryczna pracy idzie w parze z umiejętnością argumentacji i polemiki. W pracy pojawiły się jednak drobne nieprawidłowości gramatyczne i stylistyczne, których przykłady przytoczono poniżej:

- Sformułowanie „indeks prognostyczny VNPI” (np. strona 19) jest swego rodzaju pleonazmem, bowiem litery PI w skrócie oznaczają w istocie „indeks prognostyczny”; bardziej właściwe byłoby „indeks prognostyczny VN”
- Receptor progesteronowy jest oznaczany skrótem PR, podczas, gdy skrót PgR jest zarezerwowany dla oznaczenia genu kodującego białko receptorowe.
- Autorka wprowadza na stronie 36 skróty DFS i OS, jednak nie umieszcza ich w wykazie skrótów.

Uwagi językowe i edytorskie często odbierane są jako niepotrzebne i nadmierne, jednak pracę doktorską powinna cechować szczególna staranność. Te uwagi nie wpływają, oczywiście, na wartość merytoryczną dzieła i **kończącą całościową pozytywną ocenę dysertacji.**

Tak wysublimowane uwagi nie są bynajmniej przejawem szczególnej wnikliwości Recenzentki, ale dowodzą wyjątkowej dbałości podczas przygotowania manuskryptu.

Bardzo wartościowym elementem pracy jest warstwa graficzna – czytelny i niezwykle estetyczny podział tekstu oraz dopracowane w szczególności wykresy i tabele.

Podsumowanie

Przedstawiona mi do recenzji dysertacja lekarz Elżbiety Brewczyńskiej dotyczy ważnego zagadnienia i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a indywidualny wkład Doktorantki w tę analizę jest wystarczający i udokumentowany.

Recenzentkę urzekły podziękowania dla Przyjaciół z Kliniki Nowotworów Piersi i Chirurgii Rekonstrukcyjnej, którzy przez lata opiekowali się chorymi, na postawie

losów których powstała ta dysertacja. To warto pokreślić, bowiem nie zawsze potrafimy docenić znaczenie pracy zespołowej.

Gratuluje Pani Promotor, **Profesor dr. hab. med. Annie Niwińskiej**, która od lat szerzy wiedzę o DCIS wśród polskich onkologów. Ta praca stanowi unikatowy materiał edukacyjny, możliwy do wykorzystania w codziennej praktyce klinicznej.

Doktorantka wykazała się ogólną wiedzą teoretyczną, umiejętnością analitycznego myślenia oraz systemowego spojrzenia na opracowywane zagadnienie i potwierdziła swoje umiejętności prowadzenia pracy naukowej. **Końcowa całościowa ocena dysertacji jest pozytywna.**

W opinii Recenzentki, rozprawa doktorska lekarz Elżbiety Brewczyńskiej, pt. **„Rola podtypu biologicznego przedinwazyjnego przewodowego raka piersi (*ductal carcinoma in situ*, DCIS) w przewidywaniu ryzyka nawrotu, czasu do nawrotu i charakteru wznowy u chorych leczonych z zaoszczędzeniem piersi”** wykonana w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowym Instytucie Badawczym w Warszawie, pod opieką Pani Promotor - **Profesor dr. hab. med. Anny Niwińskiej** spełnia kryteria przypisane rozprawom na stopień naukowy doktora zdefiniowane w art. 13 ust. 1. Ustawy z dn. 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.).

Wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie o dopuszczenie lekarz Elżbiety Brewczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na podniesione w recenzji walory rozprawy, duży aspekt poznawczy i rzetelne opracowanie ważnego problemu medycznego, stawiam wniosek o wyróżnienie pracy przez Radę Naukową Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie.

Dr hab. n. med. Barbara Radecka, prof. UO

Barbara Radecka