



Prof. dr hab. n. med. Anita Chudecka-Głaz
Klinika Ginekologii Operacyjnej i Onkologii Ginekologicznej
Dorosłych i Dziewcząt SPSK 2 PUM
Ul. Powstańców Wlkp. 72
70-111 Szczecin

Szczecin, dnia 15.08.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Wrzeszcz
pt. „Ocena wartości prognostycznej wybranych czynników hemostatycznych oraz zmiana ich
stężenia w odpowiedzi na zastosowane leczenie uzupełniające u pacjentek z inwazyjnym
rakiem piersi”.

Na świecie obserwujemy stały wzrost zachorowań na nowotwory złośliwe zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Sytuacja ta szczególnie dotyczy raka piersi, który jest najczęstszym złośliwym nowotworem rozpoznawanym u kobiet. Niepokojący jest fakt, że współczynniki zachorowalności i umieralności na ten kobiecy nowotwór stale rosną, mimo coraz bardziej precyzyjnej diagnostyki, szeroko stosowanej profilaktyki oraz dostępności nowoczesnych metod leczenia. W etiopatogenezie tego nowotworu złośliwego biorą udział czynniki hormonalne, środowiskowe, zaburzenia molekularne (w tym obecność mutacji w genach BRCA 1 oraz BRCA 2) jak również wiele innych. Rak piersi jest jednostką chorobową charakteryzującą się znaczną heterogennością pod względem typu histopatologicznego, ekspresji receptorów oraz innych białek, jak również pod względem przebiegu choroby, od powoli rozwijających się i dobrze rokujących guzów, po obarczone znaczą śmiertelnością przypadki o ekstremalnie agresywnym przebiegu. Podobnie jak w przypadku wielu innych nowotworów nie ma wystarczających danych na podstawie, których byłibyśmy w stanie przewidzieć przebieg choroby u każdej pacjentki z rakiem piersi. Dlatego każde dobrze zaprojektowane badanie naukowe dostarczające dodatkowych, wiarygodnych danych, mogących pomóc w identyfikacji ważnych czynników prognostycznych ma ogromne znaczenie nie tylko naukowe, ale przede wszystkim jest istotne z punktu widzenia klinicznego i praktycznego.

Prodziekan
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki

prof. dr hab. Tomasz Grzybowski

Wydaje się, że rozprawa doktorska mgr Katarzyny Wrzeszcz jest jednym z takich badań.

Doktorantka postawiła dwa zasadnicze cele pracy:

1. Określenie wartości prognostycznej wybranych czynników hemostatycznych (wybranych elementów układu krzepnięcia i fibrynolizy) u pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi oraz ocena wpływu zastosowanego leczenia uzupełniającego na ich stężenie i aktywność.
2. Analiza porównawcza wybranych czynników hemostatycznych w odniesieniu do parametrów demograficzno-antropometrycznych oraz kliniczno-patologicznych w obrębie badanej grupy zarówno przed leczeniem jak i po leczeniu.

Cele zostały zrealizowane na podstawie przeprowadzonych badań, które Doktorantka przedstawiła w 2 publikacjach, w których jest pierwszym autorem.

W pierwszej publikacji pt. „*Tissue plasminogen activator as possible indicator of breast cancer relapse: A preliminary, prospective study*” przeprowadzono analizę u 41 kobiet w wieku od 45 do 69 lat, z jednostronnym, pierwotnym, rakiem piersi bez przerzutów odległych. Pacjentki były leczone w Oddziale Klinicznym Nowotworów Piersi i Chirurgii Rekonstrukcyjnej Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy w okresie od listopada 2015 do czerwca 2017. U wszystkich pacjentek za pomocą testów immunoenzymatycznych (ELISA) oceniono stężenie surowicze wybranych czynników układu fibrynolizy: t-PA, u-PA, PAI-1, PAI-1/t-PA, PAI-1/u-PA.

W pracy tej przeprowadzono analizę aktywności oraz stężeń podstawowych elementów układu fibrynolitycznego oraz określono ich wartość prognostyczną w przewidywaniu nawrotu choroby nowotworowej. Dodatkowo sporządzono analizę porównawczą analizowanych czynników w odniesieniu do obecności przerzutów do węzłów chłonnych, rozmiaru guza, stopnia histologicznej złośliwości, klinicznego zaawansowania oraz statusu receptorowego ER i PR.

Najważniejszym czynnikiem prognostycznym z analizowanych elementów układu fibrynolizy okazał się t-PA, którego stężenie z 65,6% czułością oraz 88,9% swoistością przewidywało ryzyko nawrotu choroby u analizowanych pacjentek (AUC=0,799; $p < 0,0006$). W

jednoczynnikowym modelu regresji logistycznej Coxa również stężenia t-PA były istotnie statystycznie powiązane z czasem wolnym od objawów choroby. Wysokie wartości tego czynnika układu fibrynolizy wiązały się z lepszym rokowaniem, dłuższym czasem wolnym od objawów choroby. Wzrost stężenia t-PA o 1 ng/ml zmniejsza ryzyko nawrotu raka piersi o 0.06 (OR). Potwierdzono jego przydatność również w modelu regresji wieloczynnikowej skorygowanej przez wiek, BMI, liczbę porodów, status menopauzalny oraz palenie tytoniu.

Na podstawie krzywych Kaplana-Meiera Autorka stwierdziła, że aktywność PAI-1 oraz stężenia antygeny t-PA istotnie wpływają na czas przeżycia analizowanych pacjentek. Pacjentki charakteryzują się dłuższym czasem przeżycia bez objawów choroby przy wartości PAI-1 poniżej 3,04 U/ml oraz wartościami t-PA powyżej 1,37 ng/ml (1,41 ng/ml).

Doktorantka na podstawie publikacji sformułowała wniosek, że wyższe stężenia t-PA w osoczu kobiet z rakiem piersi są związane z korzystnym rokowaniem analizowanym o parametr czasu wolnego od objawów choroby. Stwierdza również, że tkankowy aktywator plazminogenu jest biomarkerem o wysokim potencjale prognostycznym pozwalającym na szacowanie ryzyka występowania przerzutów do węzłów chłonnych oraz przewidywanie wyników leczenia raka piersi. Ostatecznie w podsumowaniu stwierdza, że wysokie stężenia t-PA oraz niskie PAI-1 są związane z dobrym rokowaniem u analizowanych pacjentek z rakiem piersi.

Wyniki zostały opublikowane w *Journal of Clinical Medicine* (IF=3,9; MEiN=140 pkt) w 2022 roku.

Z obowiązku recenzenta muszę zauważyć, że analizowana grupa miała niską liczebność, dlatego też wnioski z tej publikacji muszą być wyciągane bardzo ostrożnie. Jednocześnie nie powala to na przeprowadzenie analizy w poszczególnych typach raka piersi, które znacząco różnią się między sobą z punktu widzenia rokowniczego i zapewne wyniki w poszczególnych grupach byłyby bardzo zróżnicowane. Porównanie stężeń analizowanych czynników układu fibrynolizy pomiędzy pacjentkami ER(+) gdzie n=37 i ER(-) gdzie n=4 z punktu widzenia statystycznego wydaje się mało wiarygodne (Tabela 3 publikacji nr 1). Ze względu na interesujące wyniki tej małej grupy autorzy powinni kontynuować badania celem przedstawienia wyników opartych na większym materiale.

W drugiej publikacji pt. „*Hypercoagulability State Combined with Post-Treatment Hypofibrinolysis in Invasive Breast Cancer: A Seven Year Follow Up Evaluating Disease Free and Overall Survival*” objęto badaniem 60 kobiet z jednostronnym, pierwotnym

niskozaawansowanym (IA-IIIB) rakiem piersi. U pacjentek włączonych do badania w surowicy krwi oceniano aktywność i stężenie czynnika tkankowego (TF), inhibitora szlaku czynnika tkankowego (TFPI), tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) oraz inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1) wykorzystując immunoenzymatyczną metodę ELISA. Materiał został pobrany przez zbiegiem operacyjnym oraz 8 miesięcy po zabiegu, kiedy pacjentki zakończyły leczenie uzupełniające. Celem drugiej publikacji była ocena wpływu leczenia uzupełniającego na stężenie i aktywność analizowanych czynników układu krzepnięcia i fibrynolizy oraz ocena wartości prognostycznych tych czynników.

Wyniki badania pokazały, że skojarzone leczenie uzupełniające u analizowanych przez Autorkę pacjentek z rakiem piersi zwiększa osoczowe stężenia TF i PAI-1 oraz aktywność TF i TFPI, a istotnie obniża stężenie t-PA, w przeciwieństwie do monoterapii, która w większości przypadków nie wpływa na wartości analizowanych parametrów układu krzepnięcia i fibrynolizy. W drugiej publikacji Autorka wykazała, że TF oceniany w okresie przedoperacyjnym z wartością odcięcia na poziomie 13,32 U/ml może mieć znaczenie prognostyczne w przewidywaniu nawrotu choroby. W drugiej publikacji po raz kolejny autorka oceniła przedoperacyjną wartość prognostyczną t-PA oraz PAI-1 uzyskując podobne wyniki dla PAI-1 oraz zupełnie odmienne dla t-PA. Krzywe Kapłana-Meiera zarówno w pierwszej jak i drugiej publikacji wykazały, że wysokie stężenia antygenu PAI-1 wiążą się z gorszym rokowaniem. Natomiast w przypadku stężeń antygenu t-PA w drugiej publikacji zupełnie odmiennie niż w pierwszej, wysokie stężenia wiązały się z krótszymi parametrami przeżycia

Autorka sformułowała wnioski, że wpływ leczenia uzupełniającego na układ krzepnięcia i fibrynolizy (wywołując nakrzepliwość i hipofibrinolizę) może zwiększać ryzyko wystąpienia żylnych i tętniczych powikłań zakrzepowo-zatorowych. Dodatkowo zarówno aktywność TF przed leczeniem jak i stężenie PAI-1 i t-PA po leczeniu są związane z wynikami leczenia pacjentek z rakiem piersi. Wyższa przedoperacyjna wartość TF oraz wyższe stężenia PAI-1 i t-PA po leczeniu istotnie zwiększają prawdopodobieństwo nawrotu i śmierci.

Wyniki zostały opublikowane w 2023 roku w czasopiśmie *Life* (IF=3,2, punktacja MEiN=70 pkt).

Uwaga recenzenta. Brakuje mi dyskusji z własnymi wynikami opublikowanymi rok wcześniej, a dotyczącymi, wpływu przedoperacyjnych wartości stężeń t-PA na czas wolny od objawów choroby. W publikacji z 2022, publikacji nr 1 rozprawy doktorskiej przedoperacyjne wartości

t-PA > 1,41 ng/ml ($p=0,0086$) i t-PA > 1,37 ($p=0,0029$) wiązały się z lepszym rokowaniem (Ryc. 3 str. 86), podczas gdy w publikacji nr 2 stężenia antygeny t-PA w okresie przedoperacyjnym powyżej 5,3 ng/ml skracają czas wolny od objawów choroby ($p=0,0552$).

Przedstawiona mi do oceny dysertacja mgr Katarzyny Wrzeszcz ma charakter nowoczesny, dotyczy ważnego problemu medycznego i oceniam ją wysoko. Składa się z dwóch publikacji zamieszczonych w recenzowanych czasopismach o wysokich współczynnikach oddziaływania *Impact Factor*, łącznie IF wynosi 7,1, a punkty MEiN 210 pkt. To stawia dysertację na wysokim poziomie naukowym.

Opracowana została na tym samym materiale kobiet leczonych z powodu raka piersi w Oddziale Klinicznym Nowotworów Piersi i Chirurgii Rekonstrukcyjnej Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w latach 2015-2017. Dobór pacjentek oraz zastosowane w publikacjach metody badawcze i narzędzia statystyczne (poza liczebnością grup) są odpowiednio dobrane i nie budzą zastrzeżeń. Rozprawa jest interesująca, spójna tematycznie oraz przedstawia klinicznie istotne wyniki oraz wnioski z przeprowadzonych badań. Przeprowadzona dyskusja w poszczególnych publikacjach, jest prawidłowa, ciekawa i w wyczerpujący sposób konfrontuje otrzymane wyniki z danymi literaturowymi. Dysertacja stanowi rozwiązanie problemu klinicznego, wyraźnie odpowiada na zadane pytania i cele badawcze.

Autorka nie ustrzegła się kilku drobnych błędów.

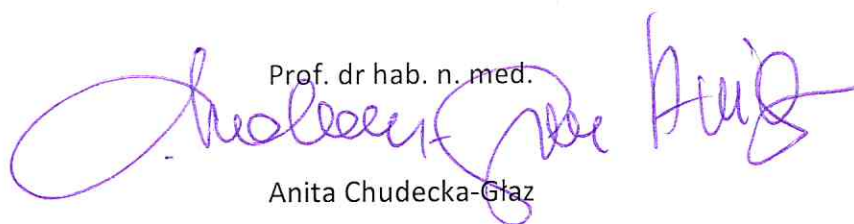
1. We wnioskach z drugiej publikacji w pkt. 1 zostały opisane bardziej wyniki niż wniosek z nich wypływający.
2. Terapia biologiczna nie jest synonimem terapii celowanej (str.50). Nie każda terapia celowana jest terapia biologiczną.
3. Drobne pomyłki edytorskie

Z ciekawości naukowej zastanawiam, się, dlaczego Autorka ograniczyła się do raków G1 i G3, eliminując raki o niskim stopniu zróżnicowania (G3).

Z przedstawianej mi do recenzji dysertacji wynika, że analizowano w obydwu publikacjach tę samą grupę kobiet (strona 73 rozprawy). Dlaczego zatem w publikacji nr 1 przeanalizowano tylko 41 a w publikacji nr 2 60 kobiet?

Podsumowując uważam, że przedstawiona mi do oceny dysertacja mgr Katarzyny Wrzeszcz pt. "Ocena wartości prognostycznej wybranych czynników hemostatycznych oraz zmiana ich stężenia w odpowiedzi na zastosowane leczenie uzupełniające u pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi" spełnia wymogi merytoryczne i formalne stawiane pracom na stopień doktora nauk medycznych określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Drobne uwagi recenzenta nie mają wpływu na końcową ocenę pracy.

Mam tym samym zaszczyt przedstawić wniosek do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Katarzyny Wrzeszcz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na publikacje w recenzowanych oraz wysoko klasyfikowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy.

Prof. dr hab. n. med.

Anita Chudecka-Głaz