

Dr hab. n. med. Lubomir Bodnar, prof. UPH  
Instytut Nauk o Zdrowiu  
Uniwersytet Przyrodniczo Humanistyczny w Siedlcach  
ul. Konarskiego 2  
08-110 Siedlce

Siedlce 2022-08-22

**Sz. Pani**

**Dr hab. n. med. Edyta Paczkowska**

Przewodnicząca Rady Naukowej

Dyscypliny Nauki Medyczne

Pomorski Uniwersytet Medyczny

w Szczecinie

**Recenzja pracy doktorskiej lek. Agnieszki Rakowskiej: Ocena wartości prognostycznej wybranych markerów hematologicznych odpowiedzi zapalnej u pacjentek z rakiem piersi potrójnie ujemnym oraz HER2-dodatnim kwalifikowanych do neoadjuwantowej chemioterapii.**

Rak piersi jest najczęstszym nowotworem u kobiet na świecie i pozostaje drugą od dziesięcioleci przyczyną zgonów z powodu schorzeń onkologicznych. Stanowi istotny problem społeczny oraz wyzwanie dla organizacji opieki zdrowotnej. W Polsce w 2019 roku rak piersi był pierwszą przyczyną zachorowań na raka u kobiet z 19620 nowymi przypadkami (standaryzowany współczynnik na 100 000 wynosił 75,13), a drugą przyczyną zgonu po raku płuca – 6951 (standaryzowany współczynnik na 100 000 wynosił 22,04).

Na początku obecnego stulecia na podstawie kompleksowej oceny ekspresji genów dzięki ogromnemu postępowi technologicznemu w zakresie metod diagnostyki, wyróżniono kilka podtypów molekularnych raka piersi o odmiennych cechach klinicznych oraz



prognostycznych tj.: luminalny A, luminalny B, HER2-dodatni oraz bazalopodobny. W kolejnych latach wprowadzono do codziennej praktyki klinicznej surogaty molekularnych podtypów opierając się na ocenie immunohistochemicznej ekspresji receptorów estrogenowych, progesteronowych, naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER-2) oraz indeksu mitotycznego Ki67. Przełożenie skomplikowanych metod molekularnych na proste do wykonania testy immunohistochemiczne dostępne w każdej pracowni patomorfologicznej jest istotnym przełomem w podejściu do zastosowania wiedzy o biologii nowotworu w codziennej praktyce klinicznej.

Potrójnie ujemny rak piersi (TNBC), który stanowi 10-20% wszystkich nowotworów złośliwych piersi, dotyczy guzów, które nie wykazują ekspresji receptora estrogenowego, receptora progesteronowego i HER2. Przyjmuje się, że gorsze wyniki leczenia TNBC są związane z bardziej agresywną biologią tego nowotworu oraz brakiem dostępnych terapii ukierunkowanych molekularnie.

Z kolei rak piersi wykazujący nadmierną ekspresję białka HER2 lub amplifikację genu *HER2* stanowi około 20% wszystkich nowotworów tego narządu. Klinicznie nadekspresja receptora HER2 związana jest z bardziej agresywnym przebiegiem choroby, wysokim indeksem proliferacyjnym, szybszym wzrostem guza i gorszym rokowaniem.

Zmiany onkogenne w komórkach nowotworowych prowadzą do indukcji szlaków zapalnych. Komórki związane z tym procesem i ich mediatory (w tym, chemokiny, cytokiny i prostaglandyny) w mikrośrodku guza wpływają na odpowiedź prozapalną, która może działać w sposób autokryny i/lub parakryny zarówno na komórki nowotworowe złośliwe, jak i niezłośliwe. Tak więc stan zapalny może z jednej strony stymulować przeciwnowotworową odpowiedź immunologiczną, ale z drugiej strony indukować powstawanie samego guza i hamować mechanizmy odpornościowe. Czynniki prozapalne są uważane za potencjalne markery przebiegu choroby nowotworowej, ponieważ stan zapalny związany z nowotworem ma duży wpływ na rozwój nowotworu, jego progresję i odpowiedź na podawaną terapię. Biomarkery zapalne, takie jak liczba neutrofilów, limfocytów i płytek krwi, a także stosunek neutrofilów do limfocytów (NLR), stosunek płytek do limfocytów (PLR) i stosunek monocytów do limfocytów (MLR), bądź inne wyliczone na ich podstawie współczynniki mogą być czynnikami prognostycznymi w różnych typach guzów litych. Podwyższone obwodowe wskaźniki ogólnoustrojowego zapalenia, takie jak NLR, PLR, mogą być związane z gorszymi wynikami leczenia w raku piersi. Poznanie czynników

predykcyjnych oraz prognostycznych tanich i możliwych do wykonania w każdym laboratorium może mieć ogromne znaczenie dla codziennej praktyki klinicznej.

Z przyjemnością zatem przeczytałem przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską lek. Agnieszki Rakowskiej, która zajęła się tymi kwestiami w dysertacji pt. „Ocena wartości prognostycznej wybranych markerów hematologicznych odpowiedzi zapalnej u pacjentek z rakiem piersi potrójnie ujemnym oraz HER2-dodatnim kwalifikowanych do neoadjuwantowej chemioterapii.” przygotowaną pod opieką naukową prof. dr hab. n. med. Tomasza Byrskiego.

Poniżej przedstawiam komentarze i wnioski wynikające z oceny formalnej i merytorycznej.

Przedstawiona do oceny rozprawa posiada typowy układ rozdziałów, których zawiera łącznie dziesięć. Praca obejmuje wraz ze streszczeniami i tabelami aż 350 stron wydruku komputerowego. Rozprawa jest zilustrowana 67 tabelami oraz 97 rycinami w głównym tekście rozprawy oraz dodatkowo zamieszczono jeszcze w aneksie 61 rycin oraz 49 tabel stanowiących rodzaj suplementu do pracy. Układ pracy jest poprawny, chociaż po ilości stron, wydaje się, że zbyt rozbudowany.

Na początku rozprawy znajduje się spis treści, a po nim bezpośrednio obszerny wykaz skrótów. Pierwszy rozdział dysertacji stanowi przegląd aktualnego piśmiennictwa przedmiotu i zawiera syntetyczny, wyselekcjonowany pod względem zawartości merytorycznej wybór doniesień naukowych, w którym doktorantka opisuje aktualny stan wiedzy oraz istotę podjętego tematu pracy. Rozdział ten zawiera zagadnienia epidemiologiczne, dane związane z klasyfikacją molekularną i biologiczną raków piersi, metod leczenia neoadjuwantowego HER2-dodatniego i potrójnie ujemnego raka piersi w stopniu zaawansowania klinicznego I-III. Znaczącą część analizy piśmiennictwa doktorantka poświęciła omówieniu roli zapalenia w onkogenezie, co stanowi przyczynek do oceny hematologicznych markerów odpowiedzi zapalnej jako potencjalnych czynników prognostycznych i predykcyjnych w raku piersi jako głównego obiektu zainteresowań pracy badawczej. Przedstawienie dotychczasowej wiedzy na w/w temat nie było łatwym zadaniem gdyż dane na ten temat pochodzą z różnych obszarów nauki i właściwe usystematyzowanie ich oraz stworzenie logicznego wywodu do postawienia celów badawczych, wymagało czasu oraz wszechstronnej wiedzy.

Autorka opracowania wyznaczyła ogólne zadanie badawcze, polegające na ocenie wartości prognostycznej wybranych hematologicznych markerów odpowiedzi zapalnej u pacjentek, u których zastosowano chemioterapię neoadjuwantową z powodu raka piersi w



jednym ośrodku onkologicznym, Zachodniopomorskim Centrum Onkologii w Szczecinie na przestrzeni trzynastu lat oraz sześć celów szczegółowych, które zostały zdefiniowane w sposób precyzyjny i w mojej opinii dotyczą istotnych problemów klinicznych:

1. Opis badanej grupy pacjentek z uwzględnieniem podziału na podtyp biologiczny raka piersi – TNBC, HER2-dodatni luminalny B i neluminalny
2. Porównanie trzech biologicznych podtypów raka piersi: TNBC, HER2-dodatniego i HER2-dodatniego luminalnego B i neluminalnego w zakresie zmiennych jakościowych, ilościowych oraz krzywych przeżycia
3. Charakterystyka i porównanie trzech wybranych podtypów biologicznych raka piersi w odniesieniu do pierwszej lokalizacji wznowy miejscowej i przerzutu odległego oraz czasu od rozpoczęcia leczenia neoadjuwantowego do wystąpienia wznowy miejscowej lub/i przerzutu odległego oraz czasu przeżycia po rozpoznaniu nawrotu choroby
4. Ocena wartości predykcyjnej wybranych markerów hematologicznych odpowiedzi zapalnej oznaczonych przed rozpoczęciem leczenia neoadjuwantowego u pacjentek z TNBC, HER2-dodatnim luminalnym B i neluminalnym rakiem piersi
5. Ocena zależności pomiędzy wybranymi parametrami hematologicznymi stanu zapalnego przed leczeniem neoadjuwantowym i częstością występowania przerzutów odległych/wznowy lokoregionalnej u pacjentek leczonych z powodu TNBC oraz HER2-dodatniego raka piersi (luminalnego i neluminalnego)
6. Ocena zależności pomiędzy wybranymi parametrami hematologicznymi stanu zapalnego przed leczeniem neoadjuwantowym i czasem przeżycia całkowitego, przeżycia specyficznego dla raka piersi oraz przeżycia wolnego od objawów choroby w badanej populacji

Materiał i metody stanowią kolejny rozdział, szczegółowo opisujący przebieg badania. Doktorantka przeprowadziła retrospektywną analizę 498 pacjentek leczonych w Zachodniopomorskim Centrum Onkologii w Szczecinie w latach 2005-2017 z powodu raka piersi w stopniu zaawansowania klinicznego I-III, które otrzymały leczenie przedoperacyjne chemioterapią opartą na schematach zawierających antracykliny lub taksoidy. Oceniono dane kliniczno-patomorfologiczne zawarte w historiach chorób 203 pacjentek z TNBC, 153 pacjentek z luminalnym B HER2-dodatnim rakiem piersi i 142 pacjentek z HER2-dodatnim neluminalnym rakiem piersi. Autorka przeanalizowała uprzednio wszystkie chore (5729 pacjentek) z rozpoznaniem raka piersi, które były leczone w tych latach w ośrodku i podała przyczyny wyłączenia kolejnych grup chorych z analizy co daje substytut losowego doboru

badanej populacji. Rozdział zawiera szczegółowe procedury badawcze, definicje przyjętych punktów końcowych badania, informacje o sposobach pozyskiwaniu danych klinicznych. Autorka pracy szczegółowo określa poddane analizie zmienne kliniczno-patologiczne szczególnie te dotyczące markerów hematologicznych odpowiedzi zapalnej. Następnie w rozdziale tym, Doktorantka opisała metody statystyczne użyte w pracy, które stanowią mocną stronę rozprawy.

W kolejnym, czwartym rozdziale autorka zawarła bardzo szczegółową prezentację wyników przeprowadzonych analiz, które podzieliła na dwie części. Pierwszą, która szczegółowo charakteryzuje badaną populację oraz drugą oceniającą wartość prognostyczną i predykcijną wybranych markerów hematologicznych odpowiedzi zapalnej przed leczeniem neoadjuwantowym w odniesieniu do wybranych punktów końcowych.

Na uwagę zasługują czytelne podsumowania okresowo podawane pod poszczególnymi podrozdziałami oraz bardzo liczne tabele i ryciny dokładnie ilustrujące zależności pomiędzy badanymi parametrami.

W rozdziale piątym pracy, w omówieniu i dyskusji jest umiejętnie napisana polemika z danymi z piśmiennictwa światowego a także odautorska interpretacja uzyskanych przez Doktorantkę wyników. Autorka w logiczny, przejrzysty i uporządkowany sposób przeprowadza omówienie wyników własnych oraz prowadzi dyskusję w pełni udowadniając swoją dojrzałość naukową. Prezentuje też ograniczenia swojej pracy, co w mojej ocenie jest kluczowe dla charakteru ocenianych parametrów hematologicznych. Wybór mediany jako punktu odcięcia dla analizowanych zmiennych mógł zatrzeć uchwycenie istotnych różnic w ocenie punktów kontrolnych. Zachęcam do ponownego rozważenia przy publikacji części wyników swojej pracy do posłużenia się metodą Contal i O'Quigley lub też krzywej oceny jakości klasyfikatora (ROC, ang. *receiver operating characteristic*) dla wyboru być może lepszych wartości punktów odcięcia analizowanych markerów stanu zapalnego.

Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie trzynastu wniosków, które zostały przedstawione w rozdziale szóstym w sposób opisowy i stanowią odpowiedź pośrednią na sześć postawionych celów pracy. Mnogość szczegółowych analiz opisanych w rozdziale prezentującym wyniki mogła sprowokować do szerszej i nie bezpośredniej odpowiedzi na każdy z postawionych punktów zdefiniowanych w celach pracy.

Rozdział siódmy to standaryzowane streszczenia w języku polskim i poprawnym angielskim. Piśmiennictwo, stanowiące kolejny rozdział jest bardzo szerokie zawiera aż 273



pozycje. Jest dobrane właściwie odpowiednio zacytowane w pracy, w zdecydowanej większości anglojęzyczne i w około 70% pochodzi z ostatnich 10 lat. Jednak przy publikacji wyników będzie musiało ulec zdecydowanej redukcji z uwagi na ograniczenia edytorskie czasopism i wyboru tylko tych najistotniejszych prac. Autorka skorzystała poprawnie z jednolitego modelu cytowań, który jest zwykle stosowany w takich publikacjach.

### **Podsumowanie recenzji**

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska zawiera interesujący pomysł badawczy, zrealizowany zgodnie z zasadami retrospektywnych badań klinicznych. Uzyskane wyniki doktorantka umiejętnie zestawiała z aktualnymi danymi z piśmiennictwa światowego. Wnioski z przeprowadzonego badania mają wartość przede wszystkim poznawczą w zakresie możliwości wykorzystania prostych markerów hematologicznych odpowiedzi zapalnej jako czynników prognostycznych i predykcyjnych u pacjentek z podtypami raków piersi o gorszym rokowaniu jak potrójnie ujemnym oraz HER2-dodatnim wymagających zastosowania neoadjuwantowej chemioterapii. Zachęcam doktorantkę do opublikowania wyników pracy w czasopiśmie z listy filadelfijskiej.

Podsumowując, pomimo drobnych niedociągnięć, przedstawiona do oceny rozprawa stanowi wartościową analizę ciekawego zagadnienia naukowego i jest istotnym przyczynkiem w zakresie budowania wiedzy na temat możliwości wykorzystania prostych markerów hematologicznych odpowiedzi zapalnej w codziennej praktyce klinicznej w przewidywaniu wyników leczenia podtypów raka piersi o gorszym rokowaniu. Praca ta w pełni odpowiada warunkom stawianym rozprawom doktorskim. Na podstawie powyższej oceny wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne, Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o **dopuszczenie lek Agnieszki Rakowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

