

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Stanisławek
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Wydział Nauk o Zdrowiu



Lublin 28.07.2022r

Recenzja rozprawy doktorskiej na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu lekarz medycyny Anna Liszcz-Tymoszuk pod tytułem: Potrójnie ujemny rak piersi - wartość prognostyczna nowych markerów w korelacji z wybranymi parametrami histopatologicznymi.

Do recenzji otrzymałem elektroniczną wersję rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu lekarz medycyny Anna Liszcz-Tymoszuk pod tytułem: Potrójnie ujemny rak piersi - wartość prognostyczna nowych markerów w korelacji z wybranymi parametrami histopatologicznymi.

Rozprawę rozpoczynają: słowa kluczowe, spis treści, tabel, rycin oraz wykaz skrótów użytych w tekście. Następnie doktorantka przedstawiła skrót pracy w języku polskim i angielskim.

W obszernym wstępie doktorantka zapoznaje nas z epidemiologią raka piersi, profilaktyką, czynnikami ryzyka, biologicznymi typami raka piersi, omawia receptory estrogenowe, progesteronowe, status HER 2 oraz problemy z postępowaniem w potrójnie ujemnym raku piersi. Szczegółowo przedstawia nowe badane markery typu COX-2, apoptoza i rola Bcl-2, hipoksja HIF 1alfa u pacjentek z potrójnie ujemnym rakiem piersi.

Cel pracy

Celem pracy jest immunohistochemiczna ocena ekspresji cyklooksygenazy - 2, Bcl-2 i HIF1 alfa u pacjentek z diagnozą potrójnie ujemnego raka piersi (TNBC) w powiązaniu z cechami kliniczno-patologicznymi takimi jak: wiek kobiet, wielkość guza (pT), stopień histologicznej złośliwości (G), obecność lub brak przerzutów do węzłów chłonnych (pN). Cele szczegółowe to: histopatologiczna analiza preparatów tkankowych, celem oceny typu histologicznego nowotworu, stopnia histologicznej złośliwości (G), obecności przerzutów do węzłów chłonnych lub ich braku (pN), immunohistochemiczna ocena ekspresji receptorów estrogenowych (ER), progesteronowych (PR) i HER2, celem wyselekcjonowania pacjentek z TNBC, immunohistochemiczna ocena ekspresji cyklooksygenazy-2, Bcl-2 i HIF1 alfa u pacjentek z potrójnie ujemnym rakiem piersi (TNBC).

Materiał i metoda oraz charakterystyka pacjentów

Badanie zostało przeprowadzone na archiwalnym materiale biologicznym od pacjentek ze zdiagnozowanym rakiem piersi. Oceniono materiał pochodzący od 1122 pacjentek w wieku od 27 do 91 lat, u których potwierdzono rozpoznanie inwazyjnego raka piersi w Zakładzie Patomorfologii Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie w latach 2009-2011. Wśród 1122 przypadków inwazyjnego raka piersi zidentyfikowano: 856 (76,29%) raków przewodowych naciekających, 158 (14,08%) raków zrazikowych naciekających, 41 (3,65%) raków mieszanych przewodowo-zrazikowych, 13 (1,16%) metaplastycznych, 19 (1,69%) śluzowych, 14 (1,25%) cewkowych, 12 (1,07%) rdzeniastych oraz 9 (0,81%) sitowatych.

U wszystkich pacjentek wykonano wstępne barwienie hematoksyliną i eozyną (H&E) oraz barwienie immunohistochemiczne w kierunku oceny obecności receptorów dla estrogeny, progesteronu oraz HER2. Spośród nich wybrano grupę 21 pacjentek z potwierdzonym brakiem ekspresji wyżej wymienionych receptorów, co stanowiło 1,9% badanej grupy pacjentek z nowotworem złośliwym.

Próbę kontrolną w badaniu stanowiły wycinki nie zmienionych patologicznie okolic gruczołu piersiowego, które również zostały poddane analizie histologicznej.

Wszystkie preparaty tkankowe zostały zweryfikowane przez dwóch niezależnych lekarzy specjalistów patomorfologii.

W dalszej części rozprawy doktorantka opisuje przebieg badań, w której oceniono rodzaj nowotworu (typ histologiczny) (klasyfikacja WHO), stopień histologicznej złośliwości (G), patomorfologiczny stopień zaawansowania raka pozwalający na wyciągnięcie wniosków dotyczących rokowania; indeks mitotyczny, który został obliczony każdorazowo jako średnia liczba mitoz w 10 polach widzenia przy 31 powiększeniu obiektywu 40x (pole powierzchni 0,17 mm²) i status węzłów chłonnych (pN), oraz wielkość guza pierwotnego (pT).

Ekspresja receptorów dla estrogeny i progesteronu została oceniona za pomocą oznaczeń immunohistochemicznych, Ekspresja HER2 została oceniona za pomocą testu HerceptTest firmy DAKO. Ekspresję cyklooksyzgenazy-2 oceniono przy użyciu przeciwciała monoklonalnego mysiego, przeciwko ludzkiemu receptorowi COX-2. Ekspresja Bcl-2 została oceniona za pomocą przeciwciała mysiego monoklonalnego anty-Bcl-2. Ocena HIF1 alfa została przeprowadzona za pomocą systemu wizualizacji ImmunoCruz™ Mouse ABC Staining System przy udziale przeciwciał monoklonalnych mysich,

Wyniki

Przeprowadzono analizy statystyczne przy użyciu pakietu IBM SPSS Statistics 25. Przy jego użyciu wykonano analizy korelacji rangowych ρ Spearmana. Za poziom istotności uznano klasyczny próg $\alpha = 0,05$, jednakże wyniki prawdopodobieństwa statystyki testu na poziomie $0,05 < p < 0,1$ były interpretowane jako istotne na poziomie tendencji statystycznej.

W grupie 1122 pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi zidentyfikowano 21 (1,9%) przypadków potrójnie ujemnego raka piersi (TNBC). Najmłodsza pacjentka ze stwierdzonym potrójnie ujemnym rakiem piersi miała 30 lat, natomiast najstarsza 74 lata. Średnia wieku TNBC wynosiła 55,47 lat, natomiast mediana 56 lat.

Według skali TNM większość potrójnie ujemnych raków piersi (TNBC) oceniono jako pT2 (12/21, 57,14%) i pN1 (11/21, 52,38%). Najliczniejszą grupę wśród potrójnie ujemnych raków piersi (TNBC) stanowiły te, które oceniono na drugim stopniu histologicznej złośliwości (G2) (12/21, 57,14%)

Wyniki badań doktorantki wskazują, że najliczniejszą grupę wśród pacjentek z TNBC stanowiły te, u których nowotwór został oceniony jako T2 – 12/21 (57,14%), co wskazuje na to, iż średnica tych guzów mieściła się w przedziale od 2 cm do 5 cm. Guzy ocenione jako T1 (4/21, 19,05%) nie przekraczają 2 cm, a guzy ocenione jako T3 przekraczają średnicę 5 cm i stwierdzono je tylko u trzech pacjentek z TNBC (3/21, 14,29%). Tylko u jednej pacjentki wielkość guza została oceniona jako T4, w tym przypadku nowotwór naciekał klatkę piersiową w postaci guzków satelitarnych (9,52%)

W badaniach doktorantki dokonano oceny zaawansowania choroby na podstawie obecności komórek nowotworowych w regionalnych węzłach chłonnych. Najliczniejszą grupę stanowiły pacjentki z TNBC o statusie węzłów N1 (11/21, 52,38%), co oznacza przerzuty w ruchomych węzłach chłonnych I–II piętra pachy po stronie guza. Brak przerzutów w okolicznych węzłach chłonnych (N0) stwierdzono u 8 z 21 pacjentek (38,1%). W pojedynczych przypadkach (1/21, 4,76%), stwierdzono obecność przerzutów do węzłów chłonnych na poziomie N2 i N3

U wszystkich pacjentek z TNBC stwierdzono ekspresję cyklooksygenazy-2 (COX-2). U jednej pacjentki ekspresja COX-2 została oceniona na poziomie [1+] (1/21, 4,76%). Ekspresja COX-2 w większości potrójnie ujemnych raków piersi (11/21) (52,38%) została oceniona na poziomie [3+], co stanowi ekspresję cyklooksygenazy-2 powyżej 30% komórek badanych. W pozostałych przypadkach TNBC ekspresję COX-2 oceniono na poziomie [2+], co stanowi 42,86% (9/21) wszystkich badanych próbek

Analiza ekspresji Bcl-2 w badanej grupie pacjentek z TNBC wykazała, że w każdym przypadku obecność Bcl-2 była powyżej 10% zabarwionych komórek. W badaniu własnym

najliczniejszą grupę stanowiły pacjentki z TNBC, u których wykazano ekspresję Bcl-2 na poziomie [2+] (9/21) (42,86%). Ekspresję Bcl-2 na poziomie [3+] stwierdzono u 6 pacjentek z TNBC (6/21) (28,57%), podobnie u 6 kolejnych pacjentek stwierdzono ekspresję Bcl-2 na poziomie [4+] (6/21) (28,57%). Nie wykazano ekspresji Bcl-2 u pacjentek z TNBC na poziomie [1+]

W przypadku barwienia HIF1 alfa, wszystkie potrójnie ujemne raki piersi (TNBC) wykazywały ekspresję tego markera. Większość pacjentek z TNBC wykazywała silną ekspresję HIF1 alfa, bo na poziomie [4+], co stanowi 52,38% przypadków (11/21). Jedna trzecia przypadków charakteryzowała się ekspresją HIF1 alfa na poziomie [3+], a 3/21 przypadków wykazywało zabarwienie typowe dla ekspresji HIF1 alfa na poziomie [2+]

W dalszej części analizy sprawdzono, czy istnieje zależność pomiędzy wielkością guza (pT), stopniem histologicznej złośliwości (G), brakiem/obecnością przerzutów do węzłów chłonnych (pN), a ekspresją badanych markerów tj. COX-2, Bcl-2 i HIF1 alfa.

Doktorantka wykonała analizy korelacji rangowej ρ Spearmana

W swoich badaniach doktorantka wykazała pozytywną korelację pomiędzy poziomem ekspresji cyklooksygenazy - 2 (COX-2), a stopniem histologicznej złośliwości (G)

Nie wykazała jednakże istotnie statystycznej zależności pomiędzy ekspresją Bcl-2, HIF1 alfa, a stopniem histologicznej złośliwości (G)

Nie wykazała także istotnego statystycznie związku między ekspresją Bcl-2, HIF1 alfa, a wielkością guza (pT)

Nie wykazała też istotnej statystycznie zależności pomiędzy ekspresją Bcl-2, HIF1 alfa, a brakiem/obecnością przerzutów do węzłów chłonnych (pN)

Dyskusja

W obszernej i rzeczowej dyskusji, doktorantka przedstawiła swoje wyniki porównując je i dyskutując z wynikami innych autorów. Wykazała znajomość piśmiennictwa światowego, właściwie odnosząc się do niego w dyskusji. Potrójnie ujemny rak piersi (TNBC) jest rzadką odmianą tego nowotworu złośliwego, stanowi około 15–20% wszystkich przypadków tej choroby. Charakterystyczną cechą TNBC jest niekorzystny jego przebieg kliniczny i rokowanie. Charakteryzuje się ujemną ekspresją receptorów dla hormonów steroidowych (estrogenowych i progesteronowych) oraz receptora HER2.

Wnioski

Doktorantka w oparciu o swoje badania i wyniki statystyczne wykazała:

-istotny statystycznie związek między ekspresją cyklooksygenazy - 2 (COX-2) a stopniem histologicznej złośliwości (G), co sugeruje, że COX-2 może być przydatnym markerem złośliwości potrójnie ujemnych raków piersi (TNBC), lecz brak związku

pomiędzy ekspresją COX-2, a wielkością guza (pT) i brakiem/obecnością przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych (pN) nie pozwala uznać COX-2 jako istotnego czynnika prognostycznego w diagnostyce TNBC.

-nie wykazała związku pomiędzy ekspresją Bcl-2, HIF1 alfa, a stopniem histologicznej złośliwości (G), co może sugerować brak przydatności Bcl-2 i HIF1 alfa jako markerów złośliwości TNBC.

-stwierdziła ekspresję Bcl-2 i HIF1 alfa we wszystkich przypadkach TNBC, lecz wobec braku zależności pomiędzy ekspresją Bcl-2, HIF1 alfa, a cechami TNBC takimi jak: wielkość guza (pT) i zajęcie regionalnych węzłów chłonnych (pN) poziom ekspresji Bcl-2 i HIF1 alfa nie może być uznany za czynnik prognostyczny w TNBC.

Podsumowanie recenzji

Do recenzji otrzymałem elektroniczną wersję rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu lekarz medycyny Anna Liszcz-Tymoszuk pod tytułem: Potrójnie ujemny rak piersi - wartość prognostyczna nowych markerów w korelacji z wybranymi parametrami histopatologicznymi. Po zapoznaniu się z doktoratem, uprzejmie informuję Radę Dyscypliny Nauki Medyczne UW w Warszawie, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. O stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. Z 2018r. Poz. 1669 z późn.zm.)

Wnoszę jednocześnie wniosek o wyróżnienie tej rozprawy ze względu na wyjątkowo wysoki poziom naukowy i wartość praktyczną wyników badań nowych markerów w potrójnie ujemnym raku piersi. Życzę jednocześnie Pani doktor Annie Liszcz - Tymoszuk dalszych sukcesów naukowych.

Bardzo proszę Radę Dyscypliny Nauk Medycznych UM w Warszawie o dalsze procedowanie przewodu doktorskiego dr. Anny Liszcz – Tymoszuk.



