



KATEDRA I ZAKŁAD PATOFIZJOLOGII
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
60-806 Poznań, ul. Rokietnicka 8
Tel. (48)(61)85476-24 (85476-20 - sekretariat)
Prof. dr hab. n. med. Katarzyna. Korybalska
E-mail: koryb@ump.edu.pl

Poznań, 27.08.2024

Recenzja rozprawy na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne mgr Katarzyny Kwiatkowskiej pt. "Ocena przydatności oznaczania wybranych markerów wydzielanych przez komórki śródbłonna naczyniowego oraz tkankę tłuszczową jako czynników prognostycznych w grupie pacjentek z pierwotnym rakiem piersi."

Promotor: Dr hab. n.med. Barbara Ciastek

Inwazyjny rak piersi to najczęściej diagnozowany nowotwór u kobiet. Z danych literaturowych wynika że 1 na 8 kobiet w ciągu swojego życia zachoruje na ten typ nowotworu. Jest wiele czynników ryzyka raka piersi na które mamy i nie mamy wpływu. Jednym z modyfikowalnych czynników ryzyka jest otyłość. Aktywna metabolicznie tkanka tłuszczowa zmieniając mikrośrodowisko otaczających tkanek, produkując wiele różnorodnych czynników, w tym te o charakterze prozapalnym, ma wpływ na tworzenie przerzutów nowotworowych, produkcję estrogenów, insulinooporność oraz zmianę fenotypu komórek śródbłonna naczyniowego. Śródbłonek to kluczowa grupa komórek, barometr sprawności układu krążenia, regulujący napięcie ściany naczyniowej, hemostazę czy angiogenezę. To komórki aktywnie współpracujące z leukocytami, płytkami, ale również wpływające na różnicowanie, proliferację oraz migrację komórek nowotworowych. Tkanka tłuszczowa może również prowadzić do lekooporności podczas terapii nowotworowej, ponieważ wydzielane przez nią adipokiny modulują różnego rodzaju szlaki sygnałowe które są docelowym miejscem działania leków przeciwnowotworowych.

Prodziekan
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki

prof. dr hab. Tomasz Grzybowski

W tym kontekście wybór markerów charakterystycznych dla funkcji tkanki tłuszczowej oraz śródbłonna naczyniowego, jako potencjalnych czynników mogących prognozować ryzyko nawrotu raka piersi, wydają się bardzo ważne i uzasadnione.

Przedstawiona mi do recenzji praca zawiera typowe dla pracy doktorskiej części jak wstęp z podsumowaniem graficznym, cel pracy, materiał i metodykę, wnioski, streszczenie, piśmiennictwo w liczbie 162 pozycji, spis skrótów, tabel i rycin oraz oświadczenia i zgodę Komisji Bioetycznej. Na pracę doktorską składa się cykl 3 prac opublikowanych w czasopiśmie Neoplasma w roku 2020, w czasopiśmie Life w roku 2022 oraz w czasopiśmie Biomedicines w roku 2023. W pierwszej publikacji Doktorantka jest drugim autorem, a w dwóch pozostałych pierwszym. Obszerny i rzeczowo napisany wstęp oraz omówienie każdej z prac stanowi doskonałe wprowadzenie do lektury trzech opublikowanych prac stanowiących podstawę niniejszej dysertacji. Zgodnie z celem pracy publikacje poświęcone są prognostycznym właściwościom różnych markerów: profibrynolitycznych (t-PA, PAI-1), metabolicznych (leptyna), oraz charakteryzujących funkcje komórek śródbłonna naczyniowego (sE-selektyna, sP-selektyna, vWF) w ocenie inwazyjności pierwotnego raka piersi. Każda z prac ma bardzo wnikliwie opisaną grupę badaną, metodykę oraz bardzo dobrze udokumentowane wyniki, na podstawie których wyciągnięto prawidłowe wnioski. Wszystkie publikacje są przejrzysto napisane co ułatwia ich analizę.

Publikacja 1.

Ruszkowska-Ciastek B., Kwiatkowska K., Bielawska S., Robakowska M., Bielawski K., Rhone P. "Evaluation of the prognostic value of fibrinolytic elements in invasive breast carcinoma patients."

Neoplasma 2020; 67(5): 1146–1156

IF 2,575 (punktacja ministerialna 70)

W publikacji autorzy oceniali wartość prognostyczną parametrów profibrynolitycznych jak t-PA i proporcji t-PA do PAI-1 oraz antyfibrynolitycznych jak PAI-1 oraz proporcję PAI-1 do t-PA, w ocenie progresji pierwotnego raka piersi (M0 n=60), zestawiając otrzymane wyniki z grupą zdrowych kobiet w porównywalnym wieku (n=45). W okresie od 28 do 40 miesięcy po zakończeniu leczenia zaobserwowano nawrót choroby u 16,7% pacjentów.

Tkankowy aktywator plazminogenu przez wpływ na syntezę wielu czynników wzrostowych (VEGF, FGF, IGF-1, HGF) stymuluje angiogenezę, proliferację i inwazyjność komórek nowotworowych sprzyjając przerzutom. W warunkach fizjologicznych PAI-1 jest inhibitorem t-PA, co hamuje progresję nowotworową. W chorobie nowotworowej oraz wraz z wiekiem, stężenie PAI-1 wzrasta. Nie prowadzi to jednak do zahamowania fibrynolizy tylko do zjawiska paradoksalnego, prowadzącego do angiogenezy, wzrostu adhezji, migracji i inwazyjności komórek nowotworowych przyczyniając się w ten sposób do progresji nowotworowej. Ponad to u około 15% chorych na nowotwory w dochodzi do zdarzeń zakrzepowo-zatorowych, natomiast u 50% chorych w badaniu pośmiertnym stwierdza się żylną chorobę zakrzepowo-zatorową. Przedstawione dane literaturowe uzasadniają badania Doktorantki w tym zakresie.

Wyniki t-PA, PAI-1 i ich wzajemnych proporcji analizowano w różnorodny sposób. Dokonano prostej analizy grupy badanej i kontrolnej oraz analizy w zależności od wieku, wartości BMI oraz klasyfikacji klinicznej (dane kliniczne i histopatologiczne). Ponad to wyznaczono punkt odcięcia, czułość i specyficzność testowanych parametrów wykorzystując zaawansowane metody statystyczne.

Najważniejsze wnioski wypływające z badań to (i) wzrost stężenia PAI-1 w grupie kobiet z pierwotnym rakiem piersi zwłaszcza poniżej 55 roku życia, (ii) najdokładniejszą wartość prognostyczną wykazuje stężenie PAI-1 w stężeniu 33,9 ng/ml (90% czułość; 36% swoistość), co różnicuje grupę kontrolną od badanej, (iii) nowotwory bardziej zaawansowane (IIA-IIIB) wykazują większy potencjał fibrynolityczny (t-PA >5 ng/ml) oraz niższy profil antyfibrynolityczny (PAI-1/t-PA <7.5), co skutkuje nawrotem choroby u ok. 25% pacjentów.

Autorzy podsumowując swoje badania stwierdzają, że wyjściowe stężenie t-PA i PAI-1 może być łatwym wskaźnikiem prognostycznym raka piersi obok tradycyjnych czynników charakteryzujących nowotwór takich jak średnica guza, stopień zaawansowania TNM lub stan zajęcia węzłów chłonnych.

Publikacja 2

Kwiatkowska K., Rhone P., Wrzeszcz K., Ruszkowska-Ciastek B. "High post-treatment leptin concentration as a prognostic biomarker of the high risk of luminal breast cancer relapse: A six-year comprehensive study."

Life 2022, 12(12):2063 <https://doi.org/10.3390/life12122063>.

IF 3,20 (punktacja ministerialna 70)

W związku z tym, że otyłość jest jednym z czynników zachorowalności na raka piersi w publikacji nr 2 Doktorantka zajęła się wpływem dwóch przeciwstawnie działających adipokin w progresji raka piersi jakimi są leptyna i adiponektyna, w ocenie wznowy choroby nowotworowej podczas 6 letniej obserwacji. Do badań włączono 70 kobiet z wczesnym stadium zawansowania inwazyjnego raka piersi (I i II stadium). Wśród 70 pacjentek 63% stanowiły kobiety w okresie menopauzy, 51% to osoby z wartością BMI klasyfikującą je jako osoby z nadwagą i I stopniem otyłości ($>25<40$). U 70% kobiet guz miał średnicę mniejszą niż 2 cm, 69% miało klasyfikację T1 (TNM), a 76% pacjentek nie wykazywała zajęcia węzłów chłonnych. Jako podstawową metodę leczenia zastosowano leczenie chirurgicznie, a następnie stosowano odpowiednią dla danej pacjentki terapię uzupełniającą składającą się z radioterapii, brachyterapii, terapii hormonalnej, chemioterapii i immunoterapii. W trakcie 6 lat obserwacji u 11 pacjentek pojawiły się nawroty (16%), u jednej z osób zdiagnozowano przerzut odległy (1%), a 10 pacjentek zmarło (14%).

Zastosowana terapia uzupełniająca spowodowała wzrost stężenia leptyny i adiponektyny w surowicy badanych pacjentek. Z wykorzystaniem metod statystycznych, wyznaczono punkt odcięcia, czułość i specyficzność przeanalizowanych adipokin przed i po leczeniu w aspekcie ich użyteczności jako parametrów prognozujących nawroty choroby nowotworowej. Badania jednoznacznie wykazały, że jedynie stężenie leptyny w surowicy po leczeniu może być wskaźnikiem prognostycznym wskazującym przyszłe efekty leczenia pacjentek we wczesnym stadium inwazyjnego raka piersi. Wyznaczonym stężeniem leptyny po leczeniu, które różnicuje pacjentki na te z lepszym i gorszym rokowaniem, jest stężenie 23,7 ng/ml (Kaplan-Meier curves; 26,9 ng/ml - ROC cut-off). Zaobserwowano tylko jeden nawrót choroby u pacjentek ze stężeniem poniżej wyznaczonej wartości, natomiast u pacjentek ze stężeniem powyżej aż u 8 kobiet pojawiły się nawroty choroby. Autorzy podsumowują swoje wyniki stwierdzeniem, że niezależnie od zastosowanego modelu regresji liniowej, jedynie stężenie leptyny po leczeniu jest czynnikiem prognostycznym. Konieczne są dalsze badania w celu ustalenia, czy oporność na chemioterapię jest przyczyną podwyższonego stężenia leptyny po leczeniu, zwiększonej częstości nawrotów raka piersi i tym spowodowanej śmiertelności pacjentów.

Publikacja nr 3

**Kwiatkowska K., Piotr Rhone P., Koziorska P., Formanowicz D.,
Ruszkowska-Ciastek B. "Complex analysis of endothelial markers as potential
prognostic indicators in luminal invasive breast carcinoma patients: Outcomes
of a six-year observational study."**

**Biomedicines 2023; 11(8):2246 <https://doi.org/10.3390/biomedicines11082246>
IF 4,70 (punktacja ministerialna 100)**

W trzeciej publikacji wybrano parametry charakterystyczne dla funkcji śródbłonna, molekuly adhezyjne (sP-selektyna, sE-selektyna), czynnik von Willebranda (vWF) oraz LAR czyli współczynnik dwóch przeciwstawnie działających adipokin, leptyny i adiponektyny. Oceniano ich przydatność jako markerów nawrotów raka piersi w 6 letniej obserwacji. Do badań wykorzystano 70 pacjentek z wczesnym stadium pierwotnego raka piersi (IA-IIIB) bez przerzutów (M0), o charakterystyce podobnej jak w publikacji z Life. Leczenie chirurgicznie było podstawową metodę leczenia, z odpowiednio dobraną dla każdej pacjentki terapią uzupełniającą (radioterapia, brachyterapia, terapia hormonalna, chemioterapia i immunoterapia). W trakcie 6 lat (68,5 miesięcy) obserwacji u 11 pacjentek pojawiły się nawroty (16%), u jednej z osób zdiagnozowano przerzut odległy (1%), a 10 pacjentek zmarło (14%).

Zarówno aktywna metabolicznie tkanka tłuszczowej jak również rozpuszczalne formy molekuł adhezyjnych i vWF, których stężenia wzrastają pod wpływem adipokin uwalnianych z tkanki tłuszczowej, mają istotny wpływ na progresję choroby nowotworowej zwiększając proliferację, różnicowanie, migrację oraz ruchliwość komórek nowotworowych. Parametry te mają również wpływ na ryzyko rozwoju żyłnej choroby zatorowo-zakrzepowej (VTE) u pacjentek z rakiem piersi (15%).

Zaobserwowano, że niezależnie od metody leczenia zarówno markery funkcji śródbłonna jak i LAR wzrosły. Wykazano znacząco wyższy odsetek nawrotów raka piersi u pacjentek z wyższym stężeniem sP-selektyny przed leczeniem i wyższym wskaźnikiem LAR po leczeniu. Wykorzystując krzywe Kaplana Meiera i krzywą ROC wyznaczono punkty odcięcia, powyżej których stężenia testowanych parametrów - sP-selektyny (krzywa K-M: 265,05 ng/ml; krzywa ROC: 247,40 ng/ml) przed leczeniem i wartości LAR po leczeniu (krzywa K-M: 0,82; krzywa ROC: 0,83) zwiększają prawdopodobieństwo przyszłych nawrotów i śmiertelność u pacjentek z wczesnym stadium inwazyjnego raka piersi. W przypadku stężeń sE-selektyny oraz vWF nie zaobserwowano takiej prawidłowości.

Analizowane prace stanowią cykl o wspólnej bardzo aktualnej tematyce dotyczącej poszukiwania markerów wskazujących na nawrót raka piersi. Badania zaplanowano prawidłowo z wykorzystaniem nowoczesnych metod badawczych oraz statystycznych. Pozwoliło to na wyciągnięcie wniosków o walorach praktycznych. Publikacje zostały opublikowane w czasopismach z listy JCR o łącznej punktacji IF 10,475 i punktacji ministerialnej 240.

Po uważnej lekturze tej monografii szczególnie doceniam:

- Wyczerpujące wprowadzenie do istoty tematyki poruszanej w publikacjach.
- Logiczny plan eksperymentów.
- Przejrzyste udokumentowanie wyników.
- Długoletni czas obserwacji pacjentów.
- Bardzo wnikliwe przedyskutowanie uzyskanych wyników.

Trudno wskazywać na niedociągnięcia w publikacjach oryginalnych. Wszystkie prace, zostały opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej, jedna ze szczególnie wysokim IF - 4,70. Tym niemniej recenzent pozwoli sobie na drobne uwagi:

- Jestem zdania, że prace o charakterze prognostycznym powinny zawierać informacje o statystycznie wyznaczonej populacji pacjentów, których analiza pozwala na wyciągnięcie prawidłowych prognostycznych wniosków. Tego elementu w 3 publikacjach zabrakło.
- W publikacji z Life wkradł się techniczny błąd przy ocenie stężenia adiponektyny. Zważywszy na jej wysokie stężenie w surowicy jest ona wyrażana w $\mu\text{g/ml}$, a nie w ng/ml . Ten błąd mógł mieć również wpływ na ocenę LAR w publikacji z Biomedicines.
- Stężenia sP selektyny i sE –selektyny we krwi osób z chorobą nowotworową, w tym z rakiem piersi, prezentowane w literaturze są znacznie niższe niż te prezentowane w publikacji z Biomedicines. W znacznej większości prac to wartości dwucyfrowe, sporadycznie trzycyfrowe szczególnie u pacjentów z przerzutami, dlatego zakładam że prezentowane wartości tych markerów w publikacji Doktorantki są przez pomyłkę wyrażone w innych jednostkach i nie są to ng/ml , ale raczej pg/ml .

Przedstawioną mi do recenzji dysertację Pani mgr Katarzyny Kwiatkowskiej oceniam pozytywnie ze względu na poruszaną tematykę. Wprowadzenie do publikacji oraz publikacje napisane są bardzo precyzyjnie i rzeczowo. Dysertacja spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w myśl art.179. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. (Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce; Dz. U. z 2018 r. poz.1669 z późn. zm.), dlatego wnoszę do Kapituły Kolegium Nauk Medycznych, Collegium Medicum w Bydgoszczy o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Kwiatkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Korybalska
Katedra i Zakład Patofizjologii UMP


Katarzyna Korybalska

UNIWERSYTET MEDYCZNY
Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Katedra i Zakład Patofizjologii
60-806 Poznań, ul. Rokietnicka 8
tel./fax 61 854 76 20

