

Ocena pracy doktorskiej

lek. Romana Monczaka p.t.:

„Zgodność reakcji immunohistochemicznych w badaniach cytologicznych i histopatologicznych u chorych z rakiem piersi.”

Precyzyjne rozpoznanie histopatologiczne raka piersi w rutynowej praktyce patomorfologicznej obejmuje immunohistochemiczne oznaczenie czynników predykcyjnych i prognostycznych, takich jak statusu receptorów steroidowych oraz receptora HER2, a także indeksu proliferacyjnego Ki67. Badania immunohistochemiczne, bo oznaczone w tkankach (greckie *histos*), są standardem. Istnieją jednak sytuacje, w których uzyskanie materiału tkankowego do badań jest utrudnione np. w przypadku trudnej lokalizacji guza (przerzutowego), brakiem zgody chorego na przeprowadzenie rozległego zabiegu operacyjnego czy też podwyższonym ryzykiem takiego zabiegu związanego ze złym stanem klinicznym pacjenta. Wtedy istnieje konieczność oparcia decyzji diagnostyczno-terapeutycznych na materiale cytologicznym (greckie *cyto*), czyli komórkowym i wykonanych reakcjach immunocytochemicznych.

Otrzymana do recenzji praca dotyczy oceny zgodności wyników reakcji immunohisto- i immunocytochemicznych u pacjentek z rakiem piersi. Otrzymały egzemplarz pracy jest napisany w układzie typowym dla prac doktorskich i obejmuje 144 ponumerowane strony maszynopisu, w tym na 17 stronach zawarto wstęp pracy, 2 strony to cele pracy, materiał i metody zawarto na 14 stronach, wyniki na 28 stronach, dyskusję na 28 stronach, a wnioski na 1 stronie. Praca zawiera 30 rycin, a właściwie 21 rycin przedstawiających 14 zdjęć morfologicznych i 7 wykresów, oraz 9 tabel (podpisanych jako ryciny) z wynikami badań. Dodatkowa tabela znajduje się w aneksie, a właściwie jest to 47 oddzielnych tabel z identycznymi nagłówkami, w których przedstawiono szczegółowe dane wszystkich badanych przypadków. Z obowiązku recenzenta dodam, że praca zyskałaby na uzupełnieniu o prawidłowy spis rycin i tabel. W spisie piśmiennictwa zamieszczono 174 pozycje, głównie anglojęzyczne, w tym 87 prac (50%) opublikowanych w 2011 roku lub później.

W przedstawionym na początku pracy wykazie stosowanych **skrótów**, ułatwiającym znacznie lekturę dysertacji, pojawił się błąd w tłumaczeniu skrótu „PR” jako „receptora estrogenowego”. Autor podaje obok prawidłowe znaczenie tego skrótu, ale w języku angielskim tj. „Progesteron Receptor”.

We **wstępie** Autor szczegółowo opisuje epidemiologię raka piersi na świecie i w Polsce i sposoby leczenia tego nowotworu. Następnie omawia wybrane czynniki prognostyczne i predykcyjne, skupiając się na wykrywanych badaniach immunochemicznymi receptorach estrogenowym, progesteronowym, HER-2 oraz indeksie proliferacji K-67, a także białku p63 i E-kadherynie. W części poświęconej białku p63 brakuje wyjaśnienia znaczenia tej proteiny w diagnostyce morfologicznej raka piersi. Następnie Autor kolejno omawia 4 podtypy molekularne raka piersi: luminalny A, Luminalny B Her2 negatywny, luminalny B Her2 pozytywny i trójnegatywny. Recenzent zwraca uwagę, że pojawienie się w tabelach i rycinach w dalszej części pracy terminu rak „basal-like” zamiast raków trójnegatywnych nie jest prawidłowe, gdyż raki „basal-like” nie są równoważne rakom trójnegatywnym i raków sutka typu basal-like carcinoma nie należy utożsamiać z rakami trójnegatywnymi (triple negative carcinoma, TNBC). Termin basal-like carcinoma należy stosować w odniesieniu do raków zdefiniowanych na podstawie badania mikromacierzy DNA, natomiast pojęcie TNBC należy odnosić do podtypu raka sutka zdefiniowanego na podstawie immunohistochemicznego badania statusu receptorów steroidowych ER i PR oraz receptora HER2 (Pol J Pathol 2014; 65 (4) (suplement 2): S53-S61). W części poświęconej rakom trójnegatywnym (ER-, PR-, HER2-) pojawia się niezrozumiałe dla Recenzenta zdanie: „Badania te nie pozwalają na identyfikację ok. 10% przypadków, które mimo powyższego portretu molekularnego, są ER+ oraz ok. 10% z nadekspresją HER2”. Przecież jeśli komórki rakowe wykazują dodatnią ekspresję receptora estrogenowego (ER) i/lub HER2, to tym samym nowotwór nie może być z definicji zaliczony do raków trójnegatywnych. Następnie Doktorant ciekawie i szczegółowo opisuje tematykę badań immunohistochemicznych, w tym niebagatelną rolę sposobu utrwalania materiału.

Na stronie 25. Autor jasno sformułował główne **cele** pracy doktorskiej. Są nimi:

- ocena zgodności reakcji immunohistochemicznych w preparatach cytologicznych i histopatologicznych
- ocena zgodności ustalenia podtypu immunohistochemicznego IH4 w badaniach cytologicznych materiału pozyskanego na drodze biopsji cienkoigłowej i badań histopatologicznych na materiale pooperacyjnym lub pozyskanym w drodze biopsji gruboigłowej
- ocena przydatności badań cytologicznych i immunocytochemicznych w diagnostyce pierwotnego i przerzutowego raka piersi, przy braku materiału histologicznego, w podejmowaniu decyzji terapeutycznych w dobie medycyny spersonalizowanej.

Pierwszy cel pracy, zdaniem Recenzenta, jest sformułowany jednak nieco zbyt ogólnie. Dopiero na stronie 40. (w części 3.3. Metody statystyczne) czytający pracę dowiaduje się o dodatkowo postawionej przez Doktoranta hipotezie, że „typ użytego utrwalacza w preparatach cytologicznych może mieć wpływ na współczynnik zgodności reakcji immunohistochemicznych w preparatach cytologicznych i tkankowych”. Moim zdaniem informacja ta powinna być jasno

wyartykułowana w dziale 2, omawiającym cele pracy. Szczęśliwie Autor naprawia to przeoczenie w streszczeniu pracy (strona 99.), gdzie wyraźnie zaznacza, że „celem pracy było porównanie zgodności reakcji immunohistochemicznych uzyskanych w preparatach cytologicznych wykonanych przy użyciu cytowirówki, **utrwalanych wcześniej w formalinie (F) lub utrwalaczu RED CELL RICH firmy Shandon (Cz)** z reakcjami w preparatach tkankowych”.

W kolejnym dziale **Materiał i metody** Autor omawia szczegółowo charakterystykę grupy badanej oraz metody wykonania oraz sposób oceny reakcji immunochemicznych zastosowane w materiale histopatologicznym i cytopatologicznym. Zwraca uwagę sposób pozyskiwania dodatkowego materiału do badań molekularnych, nie obciążający pacjentek, polegający na przepłukiwaniu igieł biopsyjnych odpowiednim utrwalaczem (F lub Cz), po wykonaniu wcześniej rozmazów, barwionych później klasycznie metodą HE dla potrzeb oceny mikroskopowej. Nie narażano więc pacjentek na emocje związane z dodatkowymi biopsjami dla badań immunocytochemicznych.

Preparaty cytopatologiczne zeskanowano w systemie wirtualnej mikroskopii firmy Olympus 120 VS w formacie Extended Focal Imaging (EFI), a ocenę reakcji immunocytochemicznych dokonano w preparatach cyfrowych, czyli na ekranie monitora. Szkoda, że Doktorant nie uwzględnił wpływu tej dodatkowej procedury na ocenę zgodności wyników reakcji immunocytochemicznych z immunohistochemicznymi. Z pracy wynika bowiem, że traktowane jako „złoty standard” i porównywane preparaty z reakcjami immunohistochemicznymi (w materiale tkankowym) nie były zeskanowane, czyli że wyniki reakcji oceniano bezpośrednio w świetle mikroskopu.

Wyniki badań przedstawiono szczegółowo w aneksie, wzbogacono licznymi rycinami z wynikami reakcji immunocytochemicznych, a także podano w tabelach, odpowiednio korelując je ze sobą. Autor wykazał m.in., że nie ma statystycznie istotnych różnic pomiędzy wynikami reakcji immunocytochemicznych w których zastosowano różne utrwalacze, a wynikami reakcji immunohistochemicznych.

W **dyskusji** Autor przedyskutował otrzymane przez siebie wyniki z dostępnymi w literaturze. Omawia przypadki w których doszło do wyników rozbieżnych, tłumacząc to m.in. heterogennością komórek w utkaniu guza nowotworowego i ilustrując ten problem odpowiednimi rycinami.

Wnioski w liczbie 5, w tym trzy pierwsze opisane jako podpunkty, znajdują pełne uzasadnienie w przedstawionych wynikach i odpowiadają założonym celom pracy.

Za najważniejsze osiągnięcie pracy doktorskiej uznaję więc wykazanie (i tu powtórzę za Autorem), że **materiał cytologiczny pobrany na drodze biopsji cienkoigłowej od pacjentek z rakiem piersi może być wykorzystywany do podejmowania optymalnych decyzji terapeutycznych w dobie medycyny spersonalizowanej, nawet w przypadku braku materiału tkankowego.**

W podsumowaniu chciałbym podkreślić, że lekarz Roman Monczak przedstawił pracę dotyczącą istotnego zagadnienia diagnostycznego, stanowiącego podstawę działań terapeutycznych. Oceniana dysertacja jest samodzielnym rozwiązaniem problemu naukowego, wskazuje na umiejętności prawidłowego prowadzenia badań naukowych oraz duże doświadczenie kliniczne w zakresie poruszanego tematu. **Jest też przykładem bardzo korzystnego i owocnego połączenia wyników usługowej pracy lekarza patomorfologa, wykonującego biopsje cienkoigłowe, z ciekawą i nowatorską techniką prowadzenia dodatkowych badań immunocytochemicznych, które były inspiracją do zakończonej sukcesem pracy naukowej.**

Na podstawie dokonanej oceny stwierdzam, że rozprawa doktorska lekarza Romana Monczaka p.t.: „Zgodność reakcji immunohistochemicznych w badaniach cytologicznych i histopatologicznych u chorych z rakiem piersi” w pełni odpowiada wymogom ustawowym o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki stawianym pracom doktorskim (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.).

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie lekarza Romana Monczaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med. Andrzej Kram
specjalista patomorfolog
4562792

