

Prof. dr hab. Lidia Usnarska-Zubkiewicz  
Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku  
Wrocław, ul Pasteura 4, Tel. 71 784 25 76

---

**Recenzja rozprawy**  
**na stopień doktora nauk medycznych**  
**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.**

Zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z dn 12.06.2024 o powołaniu mnie na recenzenta w/w rozprawy mam zaszczyt przedstawić swoją opinię.

**1. Wartość celu badawczego**

Armand Trousseau w końcu XIX wieku jako jeden z pierwszych badaczy zauważył i opisał częstsze występowanie powikłań zakrzepowych u chorych na nowotwory złośliwe przewodu pokarmowego. Późniejsze obserwacje wykazały, że u pacjentów ze złośliwymi rozrostami u których wystąpiła zakrzepica, niepowodzenie leczenia i zgon występują około 8 razy częściej w porównaniu z osobami bez złośliwego rozrostu, u których zakrzepica wikała inne schorzenia.

Biorąc pod uwagę różnice w patofizjologii i przebiegu procesów zakrzepowych u chorych na nowotwory, wprowadzono pojęcie zakrzepicy związanej z nowotworami (CAT – cancer associated thrombosis). Aktualnie uwaga badaczy jest zwrócona zarówno na badanie mechanizmów prowadzących do rozwoju zakrzepicy w tej grupie pacjentów, ale także na opracowanie standardów jej wczesnego rozpoznawania i leczenia. Udowodniono, że komórki nowotworowe wydzielają czynniki aktywujące kaskadę krzepnięcia m.in. czynnik tkankowy (TF, tissue factor, CD 142+), inhibitor tkankowego aktywatora plazmogenenu (PAI-1; *plasminogen activator inhibitor-1*). Badania wykazały ponadto, że istnieje duża rozbieżność pomiędzy występowaniem zakrzepicy objawowej a stwierdzanej ultrasonograficznie. Z tego

Pródziekan  
Wydziału Lekarskiego  
ds. Nauki

prof. dr hab. Tomasz Grzybowski

powodu u chorych planowanych do leczenia z zastosowaniem leków nasilających krzepnięcie, należy rozważyć badanie USG żył kończyn dolnych, celem wykluczenia zakrzepicy. Wyniki mogą mieć ważny aspekt kliniczny, bowiem chorzy ze stwierdzoną ultrasonograficznie zakrzepicą winni otrzymywać profilaktykę przeciwzakrzepową, m.in. heparynę drobnocząsteczkową, zwłaszcza jeżeli w leczeniu przyczynowym stosuje się antracykliny czy duże dawki glikokortykosteroidów.

Głównym celem przedstawionej mi do recenzji pracy była wieloaspektowa analiza wybranych czynników hemostatycznych, w tym czynników kluczowych w układzie krzepnięcia i fibrynolizy takich jak TF (czynnik tkankowy, *tissue factor*), TFPI inhibitor szlaku czynnika tkankowego, *tissue factor pathway inhibitor*), t-PA tkankowy aktywator plazminogenu, *tissue plasminogen activator*), u-PA (aktywator plazminogenu typu urokinazy, *urokinase-type plasminogen activator*), PAI-1 (inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, *plasma activator inhibitor type 1*) u pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi oraz ocena wpływu zastosowanego leczenia uzupełniającego na ich stężenie i aktywność. Doktorantka otrzymała również za zadanie porównanie wybranych czynników hemostatycznych w odniesieniu do parametrów demograficzno-antropometrycznych oraz kliniczno-patologicznych w obrębie badanej grupy przed i po leczeniu.

Tak więc, problemy i pytania postawione przez Doktorantkę są klinicznie bardzo ważne, naukowo, u chorych na raka piersi niedostatecznie opracowane.

## **2. Poprawność metodyczna**

Doktorantka przedstawiła dwie prace oryginalne. Praca nr 1 miała charakter obserwacyjny, do badania zakwalifikowano 41 kobiet w wieku 45-69 lat z rozpoznaniem pierwotnym, jednostronnym, inwazyjnym rakiem piersi, bez przerzutów odległych. Mediana obserwacji wynosiła 66 miesięcy. Praca nr 2 miała charakter prospektywny, do badania zakwalifikowano 60 kobiet w wieku 51-99 lat z rozpoznaniem pierwotnym, jednostronnym, inwazyjnym rakiem piersi, bez przerzutów odległych. Mediana obserwacji wynosiła 71 miesięcy. Pacjentki były diagnozowane i rekrutowane z Oddziału Klinicznego Nowotworów Piersi i Chirurgii Rekonstrukcyjnej w Centrum Onkologii im. prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy, w okresie od listopada 2015r do czerwca 2017r. Pacjentki objęte badaniem były obserwowane od momentu rozpoznania raka piersi do chwili nawrotu choroby lub zgonu.

Grupa badana została bardzo szczegółowo opisana zarówno pod względem parametrów klinicznych jak i laboratoryjnych, na podkreślenie zasługuje staranność diagnostyczna z uwzględnieniem klasyfikacji molekularnej. W ramach pierwszego eksperymentu oceniano aktywność i stężenie podstawowych elementów układu fibrynolitycznego: t-PA, u-PA, PAI-1, PAI-1/t-PA oraz PAI-1/uPA, w drugim badaniu oznaczano aktywność i stężenie TF, TFPI, t-PA, oraz PAI-1. Do oznaczeń wykorzystano zestawy do testów immunoenzymatycznych (ELISA). Zastosowane metody oceny wybranych elementów układu krzepnięcia i fibrynolizy są adekwatnymi i nowoczesnymi narzędziami badawczymi i obejmują swym zakresem postawione przez Doktorantkę cele pracy. Zasady stratyfikacji chorych w zakresie ocenianych parametrów zostały wyczerpująco przedstawione.

Dobór i liczebność grup badanych jest satysfakcjonująca i pozwalała na przeprowadzenie wiarygodnej analizy statystycznej.

Analizę statystyczną przeprowadzono m.in. z wykorzystaniem krzywej ROC, wykresów K-M, regresji Coxa, regresji logistycznej oraz wielokrotnych modeli regresji liniowej. Zastosowane metody statystyczne są prawidłowo zaprogramowane, analiza kliniczna jest wszechstronna, wnikliwa i daje odpowiedź na problemy ujęte w celach pracy.

Ilość wykonanych analiz jest imponującą, obrazuje ogrom wykonanej pracy i wskazuje na wysoki standard warsztatu badawczego, w którym praca ta powstała. W mojej ocenie podkreślić należy również wartość zaprezentowanych przez autorkę schematów i rycin, które znakomicie ułatwiają prześledzenie wyników uzyskanych w przeprowadzonych eksperymentach.

W pracy załączono informację o wyrażeniu zgody na przeprowadzenie badań przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy. Wszyscy uczestnicy badania dobrowolnie i świadomie wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu.

### **3. Znaczenie naukowe i praktyczne przeprowadzonych badań**

Autorskim osiągnięciem Doktorantki jest wykazanie, że najsilniejszym predykatorem nawrotu choroby spośród badanych elementów fibrynolitycznych jest t-PA. Większe stężenie t-PA w osoczu kobiet z rakiem piersi istotnie wiązało się z korzystnym rokowaniem ocenianym w oparciu o czas wolny od nawrotu choroby. Obserwacja ta została potwierdzona przy zastosowaniu jednoczynnikowego modelu regresji Coxa, regresji logistycznej w modelu regresji liniowej. Ponadto autorka dowiodła w wieloczynnikowym modelu regresji liniowej,

w którym wzięto pod uwagę wiek, BMI, liczbę porodów, stan menopauzalny, palenie tytoniu, że ryzyko nawrotu choroby nowotworowej wiązało się odwrotnie proporcjonalnie ze stężeniem t-PA. Doktorantka zaobserwowała również, że mniejsza aktywność PAI-1 jest powiązana z lepszymi wynikami klinicznymi. Autorka słusznie zauważyła, że u kobiet, u których stwierdza się większe stężenie t-PA lub mniejszą aktywność PAI-1, istnieje możliwość nasilenia procesu fibrylizacji, co może mieć związek z lepszym rokowaniem. Jest to przykład badań, które przekładają się na bezpośrednią korzyść kliniczną.

W drugim eksperymencie Doktorantka udowodniła, że terapia uzupełniająca zwiększa osoczowe stężenie TF i PAI-1 oraz aktywność TF i TFPI. Autorka słusznie wywodzi, że u kobiet z rakiem piersi stosujących terapię uzupełniająca istnieje większe ryzyko wystąpienia żylnych i tętniczych powikłań zakrzepowo-zatorowych. Większe przedoperacyjna aktywność TF i większe stężenie PAI-1, jak również stężenie t-PA po leczeniu istotnie zwiększają prawdopodobieństwo nawrotu raka piersi i śmierci w przebiegu choroby nowotworowej.

Są to oryginalne obserwacje Autorki stanowiące ważny głos w dyskusji badaczy tego problemu.

Z obowiązku recenzenta chciałabym zaproponować w dalszych badaniach wyłonienie i opracowanie podgrupy kobiet, u których wystąpiła zakrzepica w trakcie leczenia uzupełniającego, objawowa lub stwierdzana ultrasonograficznie. Porównanie badanych parametrów w podgrupie pacjentek z zakrzepicą i bez takiego powikłania mogłoby przyczynić się do modyfikacji leczenia przeciwzakrzepowego w tej grupie chorych.

Interesujące byłoby również porównanie badanych parametrów w grupie kobiet z rakiem piersi i zdrowymi kobietami, bez obciążeń nowotworowych.

Uwagi te w żaden sposób nie umniejszają wartości merytorycznej przedstawionej rozprawy.

### **Redakcja pracy**

Przedłożona mi do oceny rozprawa na stopień doktora nauk medycznych składa się z dwóch publikacji oryginalnych, stanowiących cykl monotematycznych prac, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Prace zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach znajdujących się na liście Journal Citation Reports (JCR), publikacje są w języku angielskim. Są to:

1. Wrzeszcz K, Słomka A, Zarychta E, Rhone P, Ruszkowska-Ciastek B: Tissue plasminogen activator as possible indicator of breast cancer relapse: A preliminary, prospective study. J. Clin. Med; 2022; 11(9); 2398

IF 3,9; MNiSW: 140 pkt

2. Wrzeszcz K, Rhone P, Kwiatkowska K, Ruszkowska-Ciastek B : Hypercoagulability state combined with post-treatment hypofibrinolysis in invasive breast cancer: a seven-year follow-up evaluating disease free and overall survival. *Life*; 2023; 13(5); 1106  
IF3,2, MNiSW : 70

Łączna punktacja prac włączonych do cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską wynosi 210 pkt MNiSW, Łączny IF: 7.1.

Do cyklu publikacji Autorka zamieściła streszczenie przeprowadzonych badań, które zawiera Wstęp, Cel pracy, Cykl publikacji, Podsumowanie, Wnioski i Bibliografię oraz Spis rycin i Spis tabel, Zgodę Komisji Bioetycznej i Oświadczenia Współautorów..

W dyskusjach zamieszczonych w opublikowanych pracach Doktorantka wszechstronnie omawia wyniki swoich badań w odniesieniu do prac innych autorów zajmujących się podobnymi problemami badawczymi. Autorka wykazała się krytycyzmem i znakomitą znajomością problemów dotyczących zaburzeń krzepnięcia i występowania powikłań zakrzepowych u chorych na raka piersi. Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Wrzeszcz jest naturalną konsekwencją badań prowadzonych nad zakrzepicą w ośrodku, w którym pracuje. O doświadczeniach ośrodka świadczą prace dotyczące zakrzepicy u chorych na nowotwory, w szczególności na raka piersi, opublikowane w renomowanych czasopismach międzynarodowych takich jak *J. Physiol. Pharmacol.* 2018; *Cancer Biomark* 2020; *Biosci Rep* 2018; *Neoplasma* 2020.

Wnioski wynikają z wykonanych badań, są w pełni uzasadnione i klinicznie ważne. Autorka cytuje prace głównie angielskojęzycznych autorów, z uwzględnieniem najnowszego piśmiennictwa.

### **Wniosek końcowy**

Oceniając rozprawę doktorską mgr Katarzyny Wrzeszcz pragnę stwierdzić, że nie mam żadnych zastrzeżeń merytorycznych odnośnie założeń, celu podjętych badań i zastosowanych metod badawczych. Uzyskane wyniki badań są interesujące, wartościowe, mogą implikować korzyści kliniczne, pozwalają na wysunięcie wniosków odpowiadających postawionym celom, wnoszą nowe informacje do wiedzy dotyczącej ważnego problemu

zakrzepicy u chorych na raka piersi, znaczenia rokowniczego wybranych elementów układu krzepnięcia i fibrylizacji i ich udziału w odpowiedzi terapeutycznej.

Przedstawiona do recenzji praca mgr Katarzyny Wrzeszcz spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, ma charakter poznawczy i duże implikacje kliniczne. Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy wysoce pozytywną recenzję pracy, z wnioskiem o dopuszczenie mgr Katarzyny Wrzeszcz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę:

1. Wartość merytoryczną pracy
2. Nowoczesną metodykę badań
3. Ogromny wkład pracy włożony w wykonanie oznaczeń i staranne opracowanie rozprawy
4. Umiejętność rozwiązywania trudnych problemów naukowych i przeprowadzenia krytycznej dyskusji własnych wyników badań w odniesieniu do piśmiennictwa.
5. Opublikowanie wyników swoich badań w formie prac oryginalnych w recenzowanych czasopismach naukowych z IF

Mam przyjemność zgłosić **wniosek o wyróżnienie rozprawy.**

Prof. dr hab. n. s. Lidia Usnarska-Zubkiewicz  
Specjalista chorób wewnętrznych  
Specjalista hematolog  
Specjalista transplantolog  
8474971

Prof. dr hab. Lidia Usnarska-Zubkiewicz

Wrocław, 26. 08. 2024r