

Wpł. 26.09.2022
m. Podgórska-Okołów

prof. dr hab. Małgorzata Podgórska-Okołów

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Katedra Onkologii i Radioterapii
40 – 514 Katowice, ul. Ceglana 35
tel. 32 358 13 93

Uniwersytet Medyczny
we Wrocławiu



RPW/14839/2022 P
Data: 2022-09-22

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNEJ	
wpł. dnia	22-09-2022
L. dz. RN-BM/	1508

Katowice, 05.09.2022

Ocena rozprawy na stopień doktora lek. med. Łukasza Fuławki: Wykorzystanie metod komputerowej analizy obrazu do oceny indeksu proliferacyjnego w raku piersi

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) rak piersi stanowi prawie 12 proc. wszystkich nowotworów na świecie - w 2020 r. wykryto 2,3 mln przypadków tego nowotworu. Pod względem epidemiologii nowotwór ten wyprzedził raka płuca, który przez ostatnie dwie dekady był najczęściej występującym, a jedną z głównych przyczyn wzrostu zachorowań na raka piersi jest coraz częściej występująca wśród kobiet otyłość.

Do najważniejszych czynników rokowniczych w raku piersi należą nie tylko wielkość guza i zaawansowanie nowotworu ale również typ histologiczny raka i jego stopień złośliwości. Analizy ekspresji genów receptorów steroidowych ER, PR oraz HER2 i Ki-67 metodą immunohistochemiczną są niezmiennie złotym standardem diagnostycznym, umożliwiającym podjęcie decyzji terapeutycznej. W zależności od kombinacji wyżej wymienionych wyróżnia się raka piersi luminalnego A, luminalnego B, HER-dodatniego i HER-ujemnego, raka HER-dodatniego nieluminalnego, raka potrójnie ujemnego oraz tzw. typy specjalne.

Białko jądrowe Ki-67 zostało po raz pierwszy wykryte w linii komórkowej chłoniaka Hodgkina i wprowadzone jako znacznik proliferacyjny. Potwierdzono, że przeciwciało monoklonalne Ki-67 jest obecne we wszystkich fazach cyklu komórkowego z wyjątkiem G₀, jednak w różnych fazach obserwuje się zmienność w zakresie jego ekspresji. Poziom Ki-67 obniża się podczas fazy cyklu komórkowego G₁ i S, ale wzrasta podczas mitozy. Dlatego też indeks mitotyczny jest uważany za jeden z najważniejszych markerów proliferacji w klasyfikacji raka piersi.

Wskaźnik proliferacji Ki-67 określa się standardowo w mikroskopie świetlnym na podstawie odsetka jąder komórek raka wybarwionych przy zastosowaniu przeciwciała Ki-67. Cytując Prof. Jacka Jassemę i Prof. Macieja Krzakowskiego z aktualnie opublikowanych

„Zaleceń postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych 2021 rok”
Kryterium dodatniego odczynu nie jest ostatecznie ustalone, ale na ogół wartość progowa dla wysokiej proliferacji zawiera się w różnych laboratoriach w granicach 20–29%. W przypadku raków luminalnych w ostatecznym raporcie należy zawsze określić podtyp histologiczny (A lub B), uwzględniający wartość odcięcia dla Ki67 stosowaną w danym laboratorium. Rola oceny Ki-67 jest coraz większa, a VIII edycja TNM uwzględnia stopień złośliwości histologicznej jako jedno z kryteriów potrzebnych do ustalenia stopnia zaawansowania klinicznego raka piersi.

Pacjentki, u których w ponad połowie komórek guza stwierdzono ekspresję tego czynnika, są w grupie wysokiego ryzyka nawrotu choroby, a jego wysoka ekspresja związana jest z gorszym rokowaniem, ale z lepszą odpowiedzią na chemioterapię i radioterapię. Ekspresja białka Ki-67 może być niezależnym czynnikiem prognostycznym określającym okres wolny od choroby, wymaga to jednak standaryzacji oceny parametru. W przypadku wysokiej ekspresji Ki-67 chemioterapia może być brana pod uwagę nawet przy rozpoznaniu wczesnego raka piersi i przy ER dodatnich guzach.

Dlatego też identyfikacja dokładnej oceny tego markera pozostaje zawsze wyzwaniem dla patologów. Niestety, nadal decyzja kliniczna dotycząca klasyfikacji raka piersi jest w większości ośrodków podejmowana na podstawie szacunkowej (eyeballing - EB), subiektywnej ocenie Ki-67, która jest podatna na błędy i zależna od rozbieżności ocen pomiędzy patologami.

Od kiedy Mamoshina i wsp. zaproponowali w 2016 ramy głębokiego uczenia się w biomedycynie na podstawie doniesień Xu i wsp. (2014), którzy opisali głębokie uczenie w analizie obrazów medycznych, wyzwaniem stało się usystematyzowanie oznaczania markera proliferacji przy użyciu sztucznej inteligencji.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska lek.med. Łukasza Fuławki: Wykorzystanie metod komputerowej analizy obrazu do oceny indeksu proliferacyjnego w raku piersi jest spójną kompilacją trzech publikacji będących odwzorowaniem rozwoju naukowego Doktoranta.

Dysertacja liczy 55 stron i zawiera obszerny wstęp, w którym oprócz podstawowych danych o podtypach raka piersi Doktorant opisał swoją drogę rozwoju naukowego. Wstęp został zaopatrzony w 18 pozycji przeważnie anglojęzycznego, aktualnego piśmiennictwa. Cele

pracy zostały przedstawione jasno i jednoznacznie. Zostały one w pełni zrealizowane i opublikowane w renomowanych czasopismach.

W streszczeniu pracy w języku polskim i angielskim zostały zawarte najważniejsze dane oraz wyniki badań opublikowane przez Doktoranta w renomowanych czasopismach.

W 2016 roku Doktorant opublikował w czasopiśmie Anticancer Research swoje doświadczenia z zastosowaniem programu internetowego do automatycznej oceny ilościowej ekspresji białek jądrowych wykrywanych metodą immunohistochemiczną. Na podstawie analizy materiału biopsyjnego pobranego od 98 pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi Autor podjął próbę wdrożenia aplikacji ImmunoRatio do wystandaryzowania oceny odsetka komórek nowotworowych w trakcie proliferacji. Uzyskano dość dobrą zgodność z rutynową diagnostyką histopatologiczną przeprowadzoną w Zakładzie Patomorfologii DCO jednak w 26 przypadkach (ponad $\frac{1}{4}$) zakwalifikowano nowotwór do innego podtypu raka piersi. Duża dojrzałość naukowa Doktoranta i krytyczna analiza wyników pracy spowodowała, że autor we wnioskach zawarł informację, że ImmunoRatio jest przydatny, ale wymaga dalszego dopracowania, aby mógł zostać wykorzystany w rutynowej diagnostyce.

Jednocześnie badacz postanowił zbadać przyczyny rozbieżności w ocenie indeksu proliferacji pomiędzy poszczególnymi histopatologami biorąc pod uwagę techniczne aspekty oceny ekspresji Ki-67. Doktorant postawił pytania czy oceniane są hotspoty i jaka jest randomizacja wyboru obszarów do oceny, ile pól jest ocenianych i przy jakim powiększeniu. Ponadto zostało postawione fundamentalne pytanie: czy odsetek komórek Ki-67 dodatnich jest oceniany „na oko – eyeballing” czy komórki są zliczane i jaka intensywność brązowego wybarwienia świadczy o ekspresji markera. Oceniano wcześniej analizowane przy pomocy aplikacji ImmunoRatio 98 preparatów z rozpoznaniem inwazyjnym rakiem piersi. Wykazano istotne rozbieżności w wynikach i metodach oceny indeksu proliferacji pomiędzy poszczególnymi patologami. Wyniki pracy zostały opublikowane w 2017 roku w czasopiśmie Indian Journal of Pathology and Microbiology.

W dalszym etapie rozwoju naukowego Doktorant przeprowadził analizę 95 preparatów mikroskopowych raka przewodowego in situ. We współpracy z ekspertami z dziedziny analizy obrazu z Wydziału Informatyki i Zarządzania Politechniki Wrocławskiej utworzono referencyjną bazę obrazów i przyporządkowanych im wartości indeksu proliferacji. Celem

pracy było stworzenie i opracowanie algorytmu do precyzyjnej oceny tego markera w obrazach mikroskopowych. W metodzie tej zastosowano metodę głębokiego uczenia oraz teorię zbiorów rozmytych. Wykazano, że metoda ta oparta na sieciach neuronowych przewyższa skutecznością inne, aktualne rozwiązania. Uzyskane wyniki analiz zostały opublikowane w bieżącym roku w renomowanym czasopiśmie Scientific Reports (IF 4,380).

Na podstawie ostrożnej oceny wyciągnięto wnioski, które całkowicie spełniają przyjęty cel pracy. Lek.med. Łukasz Fuławka wykazał istotne różnice pomiędzy stosowanymi przez patologów metodami ewaluacji indeksu proliferacji oraz rozbieżności w wynikach jego oceny. Ponadto stwierdził, że aplikacja ImmunoRatio wymaga dalszego dopracowania, aby mogła zostać wykorzystana w rutynowej diagnostyce immunologicznej.

Jednak najważniejszym aspektem przedstawionej do oceny dysertacji jest opracowanie algorytmu do określenia indeksu proliferacji w obrazach mikroskopowych opartego na aktualnych modelach głębokiego uczenia. Ten aspekt dysertacji pozwala domniemać, że w najbliższej przyszłości ocena indeksu proliferacji Ki-67, mająca znaczenie zarówno prognostyczne jak i predykcyjne, będzie jednoznaczna i wystandaryzowana. Pozwoli to nam, klinicytom, wielokrotnie uniknąć zastosowania toksycznej chemioterapii u niektórych pacjentek, a u innych wdrożyć intensywną terapię, która poprawi wyniki leczenia.

Na koniec zwracam uwagę na drobne uchybienie przy redagowaniu pracy. We wstępie, na stronie 15 Doktorant podał przykłady opracowywania algorytmów do oceny indeksu proliferacyjnego. Algorytm do oceny indeksu proliferacji PathoNet został opublikowany przez Negahbani i wsp [15], natomiast Saha i wsp. [14] opracowali skuteczny model głębokiego uczenia się, który obejmuje: warstwę decyzyjną do automatycznego wykrywania hotspotów oraz opracowanie automatycznej punktacji wskaźnika proliferacji. Ta drobna nieścisłość w żadnej mierze nie umniejsza wartości przedstawionej mi do oceny pracy.

Całość recenzowanej dysertacji oceniam bardzo wysoko. Pełna realizacja postawionego celu pracy oparta na przeprowadzeniu nowatorskich badań eksperymentalnych, zastosowanie właściwego instrumentarium merytorycznego i statystycznego, a także swobodne poruszanie się przez Autora w temacie badań pozwalają mi z pełnym przekonaniem stwierdzić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lekarza Łukasza Fuławki spełnia w całości warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki

(Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Kieruję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lekarza Łukasza Fuławki do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wnioskuję o wyróżnienie pracy.


dr hab. n.med. Wrona Cislerek prof.nadzw.
specjalista onkolog radioterapeuta
laryngolog
5004280