

Warszawa 20.3.2024 r.

Dr hab. n. med. Adam Płuzański, prof. NIO-PIB
Klinika Nowotworów Płuca i Klatki Piersiowej
Narodowy Instytut Onkologii im. M.Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

Sz. Pani

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Wierzbowska
Prodziekan ds. Nauki Wydziału Lekarskiego
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

RECENZJA

**rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Barbary Łochowskiej
z tytułem:**

**„ZMIANY STĘŻENIA CAŁKOWITEGO POZAKOMÓRKOWEGO
DNA JAKO CZYNNIK PROGNOZTYCZNY U PACJENTÓW
LECZONYCH OPERACYJNIE Z POWODU
NIEDROBNOKOMÓRKOWEGO RAKA PŁUCA”**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Piotr Białasiewicz

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Narodowy Instytut Onkologii
im. Marii Skłodowskiej-Curie
– Państwowy Instytut Badawczy

ul. W.K. Roentgena 5
02-781 Warszawa

Dyrekcja
Tel.: +48 22 546 22 14
Fax: +48 22 546 31 90

dyrektor@coi.pl
www.coi.pl

Centrala
Tel.: +48 22 546 20 00
Fax: +48 22 546 33 00

NIP: 5250008057
REGON: 000288366

Niedrobnokomórkowy rak płuca (NDRP) stanowi główną przyczynę zgonów z powodu nowotworów złośliwych zarówno wśród mężczyzn jak i wśród kobiet. Pomimo postępów w diagnostyce i stopniowo zwiększającej się roli badań przesiewowych nadal u większości chorych rozpoznaje się zaawansowane stadium choroby. Chorzy będący kandydatami do leczenia chirurgicznego stanowią około 20% chorych. Zastosowanie radykalnego leczenia operacyjnego poprawia przeżycie chorych, jednak odległe wyniki leczenia zwłaszcza w III stadium choroby pozostają niezadowalające. Uzasadnia to podjęcie próby identyfikacji czynników prognostycznych z zastosowaniem metod biologii molekularnej. Strategie z zastosowaniem tzw. biopsji płynnej opartej na oznaczaniu krążącego w osoczu DNA nowotworowego (cfDNA) są obiecujące. Metody te mogą mieć zastosowanie we wczesnym wykryciu nawrotu choroby czy zidentyfikowaniu grupy chorych ze zwiększonym ryzykiem nawrotu po radykalnym leczeniu chirurgicznym.

Celem przedstawionej do recenzji pracy na stopień doktora nauk medycznych lekarz Barbary Łochowskiej była ocena zmian stężenia cfDNA jako potencjalnego czynnika prognostycznego u pacjentów z rozpoznaniem NDRP w stadium miejscowym, zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego.

Praca liczy 90 stron maszynopisu i ma typowy dla pracy doktorskiej układ. Zawiera łącznie 6 rozdziałów, uzupełnionych piśmiennictwem, 23 tabelami i 13 rycinami.

We wstępie doktorantka szczegółowo opisuje epidemiologię raka płuca, patomechanizm działania czynników kancerogennych, objawy raka płuca oraz szczegółowo diagnostykę obrazową i inwazyjną. Przedstawia możliwości leczenia raka płuca w poszczególnych stadiach choroby ze szczególnym uwzględnieniem możliwości leczenia chirurgicznego. W podrozdziale poświęconym epidemiologii raka płuca powołuje się na nieco nieaktualne dane epidemiologiczne z 2018 roku, podczas gdy jak można przypuszczać w chwili opracowywania wyników pracy były dostępne już dane z Krajowego Rejestru Nowotworów z 2021 roku. Jednak w tym czasie nie zmieniła się istotnie struktura zachorowań na raka płuca.

Opisany we wstępie szczegółowy przegląd standardowych metod postępowania u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca świadczy o szerokiej wiedzy doktorantki w tym zakresie. Wstęp kończą podrozdziały poświęcone możliwościom praktycznego zastosowania płynnej biopsji w diagnostyce nowotworu z uwzględnieniem potencjalnej roli krążącego DNA nowotworowego u chorych na NDRP. Doktorantka szczegółowo opisuje rolę

pozakomórkowego DNA w osoczu i frakcji krążącego DNA nowotworowego jako potencjalnego markera prognostycznego, wartość diagnostyczną zmian stężenia cfDNA, potencjalną rolę w badaniach przesiewowych, w monitorowaniu leczenia a także dla oceny choroby resztkowej. Szczegółowość opisów świadczy o dobrej znajomości tematu także z zakresu biologii molekularnej.

Celem przedstawionej do recenzji pracy była ocena wartości prognostycznej cfDNA u chorych na miejscowo zaawansowanego NDRP poddanych leczeniu chirurgicznemu.

Lekarz Barbara Łochowska formułuje 4 cele główne pracy obejmujące m.in. analizę zależności stężenia cfDNA od zmiennych klinicznych i zastosowanej chemioterapii oraz analizę czasu przeżycia całkowitego w zależności od stężenia cfDNA. Zakładany czas obserwacji wyniósł 9 miesięcy co może być nieco niewystarczające dla skutecznej analizy czasu przeżycia u chorych poddanych leczeniu chirurgicznemu.

Postawione dla potrzeb realizacji celów badania hipotezy badawcze są sformułowane logicznie i mają swoje uzasadnienie w aktualnej wiedzy medycznej.

Materiał stanowi grupa 51 chorych zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego z powodu NDRP w latach 2015-2017 w Oddziale Klinicznym Chirurgii Klatki Piersiowej i Rehabilitacji Oddechowej Wojewódzkiego Wielospecjalistycznego Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi.

Chorzy przed przystąpieniem do badania podpisali formularz świadomej zgody a projekt był przedmiotem oceny Komisji Bioetycznej. Zgodnie z przedstawionym w opisie metodologii czasem rekrutacji badanie było badaniem prospektywnym co należy uznać za niewątpliwy atut.

W rozdziale 3 opisane są kryteria kwalifikacji do badania. W kryteriach wykluczenia uwzględniono m.in. obecność przewlekłych chorób zapalnych i współwystępowanie innych nowotworów w okresie 5 lat. W opisie metodologii badania brakuje mi uzasadnienia dla zastosowania takich kryteriów wykluczających chorych z udziału w badaniu nad ctDNA. Nie znalazłem także informacji jak duża grupa chorych była wykluczona z udziału w badaniu z powodu powyższych kryteriów.

Przyjęte metody analizy statystycznej są prawidłowe i opisane bardzo szczegółowo.

W rozdziale 4 przedstawiono wyniki przeprowadzonych analiz. Tabele i wykresy są czytelne i dobrze ilustrują grupę badaną jak i zależności pomiędzy analizowanymi parametrami.

W części dotyczącej chemioterapii nie jest podane czy wśród 32 chorych otrzymujących chemioterapię byli chorzy ,którzy otrzymali chemioterapię przedoperacyjną czy jedynie chorzy kwalifikowani do chemioterapii adiuwantowej.

W części dotyczącej palenia papierosów doktorantka opisuje , że w czasie włączenia do badania 65% chorych nie paliło. Jest to obserwacja dość typowa w codziennej praktyce przy zbieraniu wywiadów, gdyż większość chorych z tej grupy przestaje palić w momencie uzyskania diagnozy co jednak zwykle nie odpowiada rzeczywistemu wieloletniemu wpływowi palenia na rozwój raka płuca u tych chorych. Może to zaburzać wyniki analiz dotyczących prognostycznych czynników molekularnych. Dla potrzeb kolejnych prac w tym temacie proponuję podawać status palenia w postaci paczkolet.

Na uznanie zasługuje kompletność zbieranych danych klinicznych. Obserwacją mogącą mieć wartość dla praktyki klinicznej jest wystąpienie wysokiego stężenia cfDNA w grupie chorych z cechą N1 w porównaniu z grupą N0. Sprecyzowania wymaga czy dotyczy to chorych z cechą N1 stwierdzoną przed zabiegiem operacyjnym czy pN1 , u których pierwotnie nie stwierdzano zmian przerzutowych w regionalnych węzłach chłonnych.

Na wykresach i w tabelach dotyczących analiz przeżycia i ryzyka zgonu warto podawać odsetek kompletnych obserwacji lub liczebność analizowanej grupy. Nietypowy jest brak korelacji niektórych cech klinicznych jak np. stopień zaawansowania nowotworu z czasem przeżycia. Przyjmując ,że czas obserwacji był istotnie krótszy niż osiągnięta mediana przeżycia można przypuszczać, że brak znamienności wynika z krótkiego czasu obserwacji lub niewielkiej liczebności podgrup.

W dalszej analizie doktorantka zaobserwowała korelację stężenia cfDNA po 2-3 tygodniach, po 4 miesiącach i 9 miesiącach z ryzykiem zgonu. Z drugiej strony jedynie cfDNA mierzone po 9 miesiącach miało wpływ na czas przeżycia całkowitego. Jak wytłumaczyć te rozbieżności? Może punkty odcięcia stężeń cfDNA dla poszczególnych punktów czasowych nie zostały dobrane optymalnie? Przebieg przedstawionych w rozdziałach 4.5.3.1- 4.5.3.4 rycin może sugerować wartość rokowniczą podwyższonego stężenia cfDNA także w pozostałych punktach czasowych jednak bez uzyskanej znamienności statystycznej.

Pomimo tych wątpliwości przeprowadzona przez doktorantkę obserwacja ,że utrzymujące się podwyższone stężenie cfDNA w 9. miesiącu po zabiegu operacyjnym ma negatywną wartość prognostyczną może mieć istotne znaczenie w praktyce klinicznej.

W rozdziale 5 dysertacji lek. Barbara Łochowska umieszcza wnioski z przeprowadzonych analiz. Jest to dość nietypowy układ redakcyjny gdyż zwyczajowo wnioski umieszcza się w końcowym etapie dysertacji, po przeprowadzonej dyskusji. Doktorantka formułuje 4 wnioski, które odpowiadają celom pracy i wynikają z przeprowadzonych analiz.

Ostatni wniosek dotyczący wpływu cfDNA oznaczonego po zabiegu operacyjnym na czas przeżycia pacjentów wymaga pewnej modyfikacji o czym pisałem powyżej.

Dyskusja jest prowadzona sprawnie. W dyskusji doktorantka przedstawia interpretację wyników rozprawy w odniesieniu do danych dostępnych w piśmiennictwie. Należy zauważyć, że doktorantka bardzo sprawnie posługuje się piśmiennictwem, przytacza istotne pod względem merytorycznym doniesienia dotyczące podobnych analiz roli cfDNA uzyskiwanych w innych ośrodkach. Poczynione przez doktorantkę obserwacje są zgodne z doświadczeniami z innych ośrodków i potwierdzają rzetelne przeprowadzenie analiz. Przytoczone prace wskazują na dużą zmienność uzyskiwanych wyników cfDNA u chorych na NDRP wynikających z braku walidacji metod pomiaru stężenia cfDNA. Świadczy to o zasadności podjęcia przez doktorantkę tematu, który jednocześnie stanowi wyzwanie także dla innych ośrodków naukowych.

W dyskusji doktorantka zwraca uwagę na ograniczenia pracy dotyczące określania daty i przyczyny zgonu, braku analizy czasu do progresji choroby i braku walidacji stężenia cfDNA. Do wyników swojej pracy podchodzi krytycznie co świadczy o dojrzałości naukowej doktorantki.

Piśmiennictwo jest obszerne i zawiera 137 pozycji. Jest właściwie dobrane i odpowiada aktualnej wiedzy w badanym temacie. Całość uzupełnia streszczenie w języku polskim i angielskim.

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na często powtarzające się w pracy nieprawidłowe sformułowanie „leczenie chemioterapią” zamiast „chemioterapia”. Jest to powszechnie powtarzający się błąd także wśród onkologów klinicznych. Nie umniejsza to faktu, że praca jest zredagowana estetycznie i zawiera wszystkie niezbędne dla przewodu doktorskiego elementy

Wnioski końcowe

Przedstawiona do recenzji rozprawa na stopień doktora nauk medycznych lek. Barbary Łochowskiej dotyczy ważnego tematu poszukiwania nowych czynników prognostycznych u

chorych operowanych z powodu niedrobnokomórkowego raka płuca. Wskazane w przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej potencjalne czynniki prognostyczne mogą znaleźć zastosowanie w codziennej praktyce klinicznej. Przeprowadzona dysertacja świadczy o szerokiej znajomości tematu, umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i prawidłowego wyciągania wniosków z prowadzonych analiz a tym samym spełnia warunki stawiane dla przewodu doktorskiego określone w ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Dr hab. n.med Adam Fluzański

