

Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii
i Alergologii
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
ul. Jaczewskiego 8
Lublin 20-950
tel. (81) 724 44 31, (81) 724 42 93
fax (81) 724 48 23
kierownik:
Prof. dr hab. Janusz Milanowski



Department of Pneumology, Oncology
and Allergology
Medical University of Lublin
Poland, Lublin 20-950
Jaczewskiego 8
tel. (+48-81) 724 44 31, (+48-81) 724 42 93
fax (+48-81) 724 48 23
Head:
Prof. Janusz Milanowski MD, PhD

e-mail: pulm.dept@umlub.pl

Lublin, dnia 01.12.2023 r.

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lekarz Barbary Łochowskiej

**pt.: „Zmiany stężenia całkowitego pozakomórkowego DNA jako czynnik
prognostyczny u pacjentów leczonych operacyjnie z powodu niedrobnokomórkowego
raka płuca”**

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

Wśród nowodiagnozowanych chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP), u około 30% pacjentów choroba rozpoznawana jest w stadiach I-IIIa zaawansowania. W tej grupie chorych najlepszą metodą terapeutyczną pozostaje leczenie chirurgiczne. Jednak, rokowanie chorych we wczesnych stadiach raka płuca w istotnym stopniu zależy od stopnia zaawansowania choroby. Odsetek przeżyć 5-letnich u chorych poddanych resekcji guza w stadium IA wynosi 92%, natomiast u chorych w stadium IIIa – 36%. Za wznowę choroby prawdopodobnie odpowiedzialne są mikroprzerzuty obecne w organizmie chorego już w chwili podjęcia leczenia operacyjnego. W celu poprawy parametrów przeżycia chorych na raka płuca we wczesnych stadiach zaawansowania poddanych całkowitej resekcji guza, standardem opieki stała się dwulekowa chemioterapia adjuwantowa oparta o związki platyny, co jednak nieznacznie poprawiło odsetek 5-letnich przeżyć. Dane te wskazują jednoznacznie na ogromną konieczność poprawy parametrów przeżycia w grupie chorych we wczesnych stadiach zaawansowania NDRP poddanych resekcji guza i poszukiwania skutecznego markera prognostycznego. Wolnokrążące nowotworowe DNA to pozakomórkowy fragment DNA znajdujący się w krwiobiegu, który

uwalniany jest z rozpadających się komórek nowotworowych. Wiele badań wskazuje, że ctDNA może stać się bardzo obiecującym nieinwazyjnym biomarkerem toczącego się procesu nowotworowego lub jego progresji. Analiza ctDNA otwiera również nowe możliwości zindywidualizowanej diagnostyki i identyfikacji chorych z minimalną chorobą resztkową po operacji w celu monitorowania postępu choroby i odpowiedzi na leczenie.

W czasach ogromnego zainteresowania poprawą parametrów przeżycia chorych we wczesnych stadiach raka płuca, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarz Barbary Łochowskiej doskonale wpisuje się w nurt bardzo aktualnych badań poświęconych poszukiwaniu nieinwazyjnych i szybko dostępnych czynników prognostycznych w tej grupie chorych. Praca dotyczy oceny zmian stężenia całkowitego pozakomórkowego DNA jako czynnika prognostycznego u pacjentów leczonych operacyjnie z powodu niedrobnokomórkowego raka płuca. Autorka przeprowadziła ocenę stężenia cfDNA w kilku punktach czasowych u chorych poddanych zabiegowi operacyjnemu, korelując uzyskane wyniki z danymi kliniczno-demograficznymi chorych włączonych do badanej grupy. Zaproponowana przez Autorkę tematyka to przykład doskonałego połączenia pracy klinicysty z pracą laboratoryjną dotyczącą oznaczeń molekularnych, co w dzisiejszych czasach świadczy o szerokim i holistycznym spojrzeniu na podjęty temat.

Ocena merytoryczna i metodologiczna pracy.

Praca doktorska Barbary Łochowskiej liczy 90 stron wydruku komputerowego dwustronnego i ma układ typowy dla tego typu opracowań. W spisie treści odnajdujemy wszystkie elementy konstrukcyjne rozpraw doktorskich, czyli wstęp, cele pracy i hipotezy badawcze, materiały i metody, wyniki, wnioski, dyskusję, streszczenie polsko- i angielskojęzyczne, literaturę oraz spis tabel, rycin i użytych skrótów. Kolejność rozdziałów jest prawidłowa, jednak w większości tego typu opracowań rozdział dotyczący spisu skrótów umieszczany jest na początku opracowania, a wyciągnięte z pracy wnioski znajdują się już po dyskusji, ale są to tylko kosmetyczne propozycje Recenzenta. Praca jest przedstawiona w bardzo estetyczny sposób.

Wstęp rozprawy stanowi bardzo zwięzłe opracowanie dotyczące epidemiologii, patobiologii, diagnostyki i leczenia raka płuca. Niezmiernie ciekawe jest przybliżenie czytelnikowi historii badań nad rakiem płuca i pierwszych opisów choroby, co ułatwia zapoznanie się z tematem. Autorka bardzo szeroko opisała sposoby leczenia raka płuca w zależności od stopnia zaawansowania choroby, koncentrując się zarówno na zabiegu operacyjnym, chemioterapii, terapiach ukierunkowanych molekularnie i immunoterapii. We wstępie odnajdujemy też bardzo merytorycznie opracowany rozdział dotyczący pozakomórkowego krążącego DNA wraz z

dokładnym opisem jego wartości prognostycznej, diagnostycznej oraz roli cfDNA w monitorowaniu skuteczności leczenia i choroby resztkowej. Autorka powołuje się w tym miejscu na liczne prace dotyczące tego tematu, a całość rozdziału stanowi bardzo sumienne opracowanie, przybliży czytelnikowi szczegółowe informacje, dlaczego podjęty przez Autorkę temat jest tak istotny. Jednak, korzystając z roli recenzenta mam kilka uwag to tej części pracy doktorskiej. Autorka w kilku miejscach posłużyła się mało precyzyjnymi sformułowaniami (np. "mutacje w eksonach 18., 19., 19 i 21 chromosomu 7", myśląc z pewnością o genie *EGFR*), a nazwy genów powinny być pisane kursywą. Autorka wskazuje na stronie 19, że działania uboczne po zastosowaniu immunoterapii są znacznie rzadsze w porównaniu z chemioterapią. Nie do końca zgodzę się z tym sformułowaniem, skutki uboczne immunoterapii mają zupełnie odmienny profil toksyczności, mogą wystąpić w każdym okresie w trakcie leczenia, a nawet po jego zakończeniu. Zdecydowanie zabrakło ryciny lub schematu podsumowującego dostępne w chwili obecnej opcje terapeutyczne w zaawansowanym NDRP. Należałoby zwrócić szerszą uwagę na jedyny jak do tej pory czynnik predykcyjny włączenia chorych do immunoterapii, czyli ekspresję białka PD-L1, której oznaczenie weszło do kanonu badań wykonywanych w diagnostyce NDRP. Poziom ekspresji białka PD-L1 wraz z rozpoznaniem histopatologicznym (przy braku obecności molekularnych czynników predykcyjnych) determinuje rodzaj zastosowanej immunoterapii. Ponadto, zgodnie z obowiązującym programem lekowym B.6 (stan na 1 października 2023 r), terapia adiuwantowa z wykorzystaniem atezolizumabu (przeciwciało anti-PD-L1) stała się także dostępna dla polskich chorych we wczesnych stadiach raka płuca. Do programu kwalifikują się chorzy, których komórki nowotworowe wykazują ekspresję białka PD-L1 na ponad 50% i nie mają stwierdzonych nieprawidłowości genetycznych. Zdaję sobie sprawę, że wspomniana opcja terapeutyczna mogła być niedostępna w momencie powstawania niniejszej pracy, dlatego jest to tylko uwaga na przyszłość, aby pamiętać o możliwościach terapii adjuwantowej u chorych we wczesnych stadiach raka płuca. Podsumowując, rozdział ten stanowi bardzo zwarte i rzetelne opracowanie, znakomicie wprowadzające czytającego w przedstawione w następnej części cele pracy, badania i wyniki, a drobne uwagi Recenzenta w żaden sposób nie ujmują wagi tej części rozprawy.

Cele pracy sformułowane są bardzo poprawnie, Autorka przedstawiła je wraz z hipotezami swojej pracy. Sformułowano cztery cele badawcze, które dotyczyły: 1) oceny zmian stężenia cfDNA u pacjentów z rozpoznaniem NDRP zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego w obserwacji 9-cio miesięcznej, 2) analizę zależności cfDNA od zmiennych klinicznych, 3) ocenę wpływu leczenia chemioterapią na stężenie cfDNA, 4) ocenę całkowitego przeżycia chorych na

NDRP w zależności od stężenia cfDNA. Według Recenzenta, cele postawione przez Autorkę, które są bardzo zasadne, powinny być poprzedzone hipotezami, nie zaś odwrotnie.

W rozdziale Materiały i Metody, Autorka przedstawia szczegółowo wytyczne włączenia i wyłączenia chorych do badanej grupy oraz sposób izolowania i oznaczania cfDNA. Uwagę Recenzenta zwraca podrozdział poświęcony metodom analizy statystycznej, w którym szczegółowo opisano wykorzystane w pracy techniki statystyczne. W opinii Recenzenta, to również w tym rozdziale powinna znajdować się charakterystyka kliniczna grupy badanej (a nie w rozdziale Wyniki, ale jest to tylko subiektywna sugestia Recenzenta, nie wpływająca oczywiście na jakość tego rozdziału), która wykonana jest bardzo rzetelnie, szczegółowo, przedstawiona w formie wyczerpującej tabeli i zasługuje na uznanie.

Wartościowe wyniki badań naukowych cechuje możliwość przełożenia ich na praktykę kliniczną. W tym kontekście, uzyskane przez Autorkę rezultaty badań prezentowane w rozprawie doktorskiej z całą pewnością spełniają te wymagania. Rozdział dotyczący uzyskanych wyników jest napisany bardzo jasno i rzeczowo. Autorka rozpoczęła od dokładnej charakterystyki badanej grupy chorych, następnie przedstawiła stężenia cfDNA w całej badanej grupie w 4 punktach czasowych: przed zabiegiem operacyjnym, 2-3 tygodnie po zabiegu, 4 miesiące po zabiegu i 9 miesięcy po zabiegu. Zmiany stężenia cfDNA przedstawiono w postaci wykresów typu „whisker-lot” oraz liniowego. Następnie Autorka przedstawiła zależności pomiędzy zbadanym stężeniem cfDNA a wybranymi parametrami klinicznymi chorych. Ciekawym jest brak zależności pomiędzy stężeniem cfDNA a stopniem zaawansowania klinicznego choroby wg klasyfikacji TNM, co potwierdzają również przytoczone w Dyskusji inne badania. Autorka stwierdziła natomiast związek pomiędzy stężeniem cfDNA a wystąpieniem cechy N czy historią palenia papierosów. Interesujący jest również wynik, iż wyższe stężenia cfDNA obserwowano w grupie chorych otrzymujących leczenie uzupełniające w porównaniu do grupy nieotrzymującej takiego leczenia. Co więcej, dane przedstawione w Tabeli numer 17 wskazują na wzrost stężenia cfDNA mierzonego w ustalonych punktach czasowych w grupie chorych otrzymujących chemioterapię uzupełniającą. Prosiłabym w tym miejscu o komentarz Autorki, czy chorzy z rosnącym stężeniem cfDNA mieli diagnozowaną progresję choroby? Dlaczego zdaniem Autorki chemioterapia nie miała wpływu na dynamikę zmian stężeń cfDNA w czasie w tej grupie chorych?

Uzyskane wyniki umożliwiły Autorce postawienie 4 wniosków, które bezpośrednio są związane z uzyskanymi rezultatami. Wnioski sformułowane są bardzo zasadnie.

Rozdział dyskusja poświęcony jest przede wszystkim wnikliwej analizie uzyskanych przez Autorkę wyników z danymi opublikowanymi w literaturze światowej. Dyskusja,

podzielona na podrozdziały, dowodzi znakomitej orientacji Autorki w najnowszej literaturze dotyczącej poruszanego problemu. Dodatkowym atutem całości pracy doktorskiej jest umieszczony w Dyskusji podrozdział dotyczący ograniczeń prezentowanej pracy. Autorka bardzo krytycznie ustosunkowuje się w nim do wykonanych przez siebie badań. Nieczęsto spotyka się w opracowaniach doktorskich opis ograniczeń rozprawy. Świadczy to o bardzo krytycznym podejściu do swoich badań, o szerokim zrozumieniu tematu i w tym miejscu gratuluję Autorce bardzo obiektywnego spojrzenia na rezultaty pracy.

Cytowana w pracy literatura należy do aktualnej i jest w większości anglojęzyczna. Praca zawiera 137 pozycji literaturowych prawidłowo cytowanych w tekście. Jednak, Autorka nie zastosowała jednolitego schematu przygotowania spisu literatury, co z pewnością powinno zostać uporządkowane w przygotowujących w przyszłości publikacjach.

Wniosek końcowy

Z ogromną satysfakcją stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarz Barbary Łochowskiej pt.: „Zmiany stężenia całkowitego pozakomórkowego DNA jako czynnik prognostyczny u pacjentów leczonych operacyjnie z powodu niedrobnokomórkowego raka płuca” stanowi bardzo interesujące i oryginalne dzieło, w którym Autorka dokonała szczegółowej oceny wpływu wielu parametrów klinicznych na stężenie całkowitego pozakomórkowego DNA. Praca zrealizowana jest z dużą starannością, przedstawiona jest w sposób bardzo estetyczny i co najważniejsze, dotyczy bardzo aktualnego problemu poszukiwania wiarygodnych czynników prognostycznych u chorych operowanych z powodu raka płuca. Gratuluję w tym miejscu Autorce i oczywiście Promotorowi.

Praca doktorska lekarz Barbary Łochowskiej odpowiada wszelkim wymogom stawianym rozprawie doktorskiej, posiada duże znaczenie naukowe, a wyniki tej pracy mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej.

Wnioskuje do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie pani Barbary Łochowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

Prof. dr hab. n. med. Kamila Wojas-Krawczyk

Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

06030
prof. dr hab. n. med. Kamila Wojas-Krawczyk
DIAGNOSTA LABORATORYJNY
specjalista
laboratoryjnej immunologii medycznej
specjalista
laboratoryjnej genetyki medycznej