



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Autoreferat

Adam Rzechonek

Wrocław, 2018

Spis treści	
1. Dane osobowe	4
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.	4
Przebieg pracy zawodowej	5
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.	5
4. Szczegółowe osiągnięcia naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 z dnia z marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zmianami	5
Tytuł osiągnięcia naukowego	5
Wykaz publikacji będących podstawą do sformułowania wniosku o nadanie tytułu dr habilitowanego w dziedzinie medycyny	6
Omówienie celu naukowego cyklu prac wraz określeniem ich ewentualnego wykorzystania	8
Geneza podjętych badań	8
Wprowadzenie	8
Cele badawcze cyklu prac:	9
Omówienie prac	10
A. Część kliniczna - Wybrane kliniczne czynniki wpływające na przeżycie po resekcji guzów pierwotnych i wtórnych płuc.	10
B. Część biologiczna - Wybrane molekularne czynniki rokownicze w raku płuca związane z przerzutami.	12
Podsumowanie najważniejszych osiągnięć badawczych zawartych w cyklu prac.	17
5. Pozostała działalność naukowo- badawcza	19
Streszczenie:	19
1. Leczenie chirurgiczne deformacji lejkowatej klatki piersiowej	19
2. Znaczenie ingerencji torakochirurgicznych w medycynie paliatywnej i w leczeniu jatrogennych lub nowotworowych niedrożności tchawicy i przełyku. (patrz str. 24).	20
3. Leczenie chirurgiczne przerzutów do płuc (patrz str. 26).	20
4. Badanie dystrybucji środków hydrofobowych w guzach nowotworowych płuc (patrz str. 28 i 34).	21
5. Badanie wrażliwości komórek nowotworów płuc na elektroporację i elektrochemioterapię (patrz str. 34 i 35).	22
Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk medycznych	22
Ad 1. Urazy klatki piersiowej.	23
Ad 2. Zakażenia w torakochirurgii	23
Ad 3. Monitorowanie i leczenie bólu pooperacyjnego.	24
Ad 4 Leczenie chirurgiczne guzów płuc, śródpiersia, rozedmy płuc, chorób opłucnej	25
Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia naukowego doktora	26
Ad 1. Deformacje ściany klatki piersiowej.	26
Ad 2. Przydatność procedur torakochirurgicznych w medycynie paliatywnej i w leczeniu jatrogennych lub nowotworowych niedrożności tchawicy i przełyku.	28
Ad 3. Leczenie chirurgiczne przerzutów nowotworowych do płuc.	30
Ad 4. Nowotworowe komórki krążące we krwi, jako element diagnostyczny NSCLC	32
Ad 5. Badania dystrybucji środków hydrofobowych w guzach płuc i ich otoczeniu wspomaganej kriodestrukcją.	32
Ad 6. Wrażliwość komórek nowotworów płuc na elektroporację i elektrochemioterapię.	35
Ad 7. Aspekty ekonomiczne leczenia wybranych schorzeń klatki piersiowej. Efekty ekonomiczne procedur torakochirurgicznych	36
Ad 8. Ciekawe przypadki medyczne. Prezentacje przypadków.	37
Aktualnie prowadzone badania i plany naukowe	38
Ad 1 Kontynuacja obserwacji wyników metastazektomii płucnej.	38

Ad 2. Badania dystrybucji związków hydrofobowych w nowotworach płuc.	39
Ad 3. Efektywność elektroporacji w hodowlach komórkowych pierwotnego i wtórnego nowotworu płuc lub opłucnej.	40
Ad 4. Endoskopowe leczenie niedrożności tchawicy i dużych oskrzeli z użyciem hialuronidazy.	40

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: Adam Rzechonek

Adres służbowy: Katedra i Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej

Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

ul. Grabiszyńska 105, 53-439 Wrocław

tel.: 71 334 94 00, fax: 071 362 13 06

E-mail: adam.rzechonek@umed.wroc.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

15.10.1979 r.	Dyplom lekarza po ukończeniu Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej we Wrocławiu.
28.04.1983 r.	Specjalizacja I stopnia z chirurgii ogólnej.
15.05.1986 r.	Specjalizacja II stopnia z chirurgii klatki piersiowej.
26.05.1995 r.	Stopień doktora nauk medycznych w dziedzinie chirurgii klatki piersiowej, uzyskany na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu na podstawie pracy: <i>„Porównanie skuteczności analgezji pod- i doopłucnowej po torakotomiach”</i> .
28.02.1997 r.	Dyplom ukończenia kursu zarządzania firmą organizowany przez Wrocławską Szkołę Zarządzania we współpracy z Austriacką Izbą Gospodarczą.
16.06.2000 r.	Dyplom ukończenia międzyuczelnianych podyplomowych studiów w zakresie organizacji i zarządzania zakładem opieki zdrowotnej - Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu

Przebieg pracy zawodowej

05.11.1979 - 15.05.1986 r.	Młodszy asystent Oddziału Chirurgii Klatki piersiowej Dolnośląskiego Centrum Gruźlicy i Chorób Płuc we Wrocławiu
15.05.1986 - 31.08.1998 r.	Starszy asystent Oddziału Chirurgii Klatki piersiowej Dolnośląskiego Centrum Gruźlicy i Chorób Płuc we Wrocławiu
23.12.1989 - 1998 r.	Konsultant w Wojewódzkim Specjalistycznym Szpitalu Chorób Płuc i Gruźlicy w Kaliszu-Wolicy
01.09.1998 - 01.03.2003 r.	Zastępca dyrektora ds. leczenia w Dolnośląskim Centrum Gruźlicy i Chorób Płuc we Wrocławiu
01.03.2003 - 30.09.2003 r.	Starszy asystent Oddziału Chirurgii Klatki Piersiowej w Dolnośląskim Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

01.10.2003 – 30.09.2014 r.	Adiunkt Katedry i Kliniki Chirurgii Klatki Piersiowej Akademii Medycznej we Wrocławiu
01.10.2014 r. do chwili obecnej	Pełniący obowiązki kierownika Katedry i Kliniki Chirurgii Klatki Piersiowej Akademii Medycznej we Wrocławiu

4. Szczegółowe osiągnięcia naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 z dnia z marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zmianami**Tytuł osiągnięcia naukowego**

„Analiza wybranych czynników prognostycznych u chorych operowanych z powodu pierwotnych lub przerzutowych nowotworów płuc.”

Na cykl prac składają się cztery oryginalne prace naukowe opublikowane w czasopismach z. listy filadelfijskiej w latach 2016 - 2018. Sumaryczny współczynnik wpływu IF (IF - *ang. impact factor*) oraz punktacja MNiSW czasopism, w których opublikowany został cykl publikacji wchodzących w jego skład wynosi: **łącznie IF i MNiSW / KBN z cyklu prac- IF: 6,764 , (85,0 punktów MNiSW)** według listy JCR, zgodnie z rokiem opublikowania.

Przedstawione osiągnięcie naukowe omawia rezultaty badań wartości prognostycznej wybranych markerów tkankowych oraz czynników klinicznych u chorych z nowotworami płuc. Badania zostały przeprowadzone na materiale stanowiącym fragmenty guzów nowotworowych lub surowicy operowanych chorych w korelacji z danymi patologiczno- klinicznymi. Analizy obejmowały pacjentów leczonych we Wrocławskim Ośrodku Torakochirurgicznym Dolnośląskiego Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu w latach 1999 - 2014.

Wybrane markery badano z wykorzystaniem metody immunocytochemicznej materiału tkankowego oraz biochemicznej surowicy krwi pacjentów. Dane kliniczne chorych i dane o przebiegu leczenia uzyskano z dokumentacji medycznej, a informacje metrykalne dotyczące przeżycia pacjentów otrzymane zostały z Urzędu Personalizacji Ludności w Warszawie.

Wykaz publikacji będących podstawą do sformułowania wniosku o nadanie tytułu dr habilitowanego w dziedzinie medycyny

1. **Adam Rzechonek**, Martin Cygan, Piotr Błasiak, Beata Muszczyńska-Bernhard, Vladimir Bobek, Marek Lubicz, Jarosław Adamiak.: **Expression of ceramide galactosyltransferase (UGT8) in primary and metastatic lung tissues of non-small-cell lung cancer** Adv.Exp.Med.Biol. 2016 Vol.952: Neuroscience and respiration. Vol. Advancements in clinical research; s.51-58

IF: 1. 881 Pkt. MNiSW / KBN: 25.00

Mój udział procentowy w pracy, który szacuję na 60%, polegał na współtworzeniu koncepcji całego badania, zebraniu danych, koordynacji opracowania wyników, napisaniu manuskryptu i redagowaniu pracy oraz opracowywaniu odpowiedzi w korespondencji z edytorem.

2. **Adam Rzechonek**, Aleksandra Kamińska, Piotr Mamczur, Arkadiusz Drapierski, Władzysław Budzyński: **Limited Clinical Significance of Dimeric Form of Pyruvate Kinase as a Diagnostic and Prognostic Biomarker in Non-small Cell Lung Cancer** Adv.Exp.Med.Biol. 2016 Vol.955: Neuroscience and respiration: Pathobiology of pulmonary disorders; s.51-57

IF: 1. 881 Pkt. MNiSW / KBN: 25.00

Mój udział procentowy, który szacuję na 65%, polegał na udziale w tworzeniu koncepcji całej pracy, optymalizacji i koordynacji części doświadczalnej dotyczącej aktywności kinazy pirogronianowej w surowicy chorych na raka niedrobnokomórkowego płuca, opracowaniu wyników z części klinicznej, rysunków i napisaniu artykułu oraz opracowywaniu odpowiedzi w korespondencji z edytorem.

3. **Adam Rzechonek, Piotr Błasiak, Grzegorz Pniewski, Piotr Cierpikowski, Monika Mościbrodzka, Maciej Ornat, Jędrzej Grzegorzółka, Anna Brzecka: Influence of Obesity on the Course of Malignant Neoplastic Disease in Patients After Pulmonary Metastasectomy.** In Vivo. 2018 Jan-Feb; 32(1):197-202.

IF: 0.953 Pkt. MNiSW / KBN: 15.00

Mój udział procentowy, który szacuję na 60%, polegał na aktywnym współtworzeniu projektu całego opracowania, zebraniu materiału badawczego, koordynacji i merytorycznej, opieki nad prawidłową realizacją całości eksperymentów, opracowaniu wyników, rycin i redagowaniu pracy oraz opracowywaniu odpowiedzi w korespondencji z edytorem.

4. **Adam Rzechonek, Jędrzej Grzegorzółka, Piotr Błasiak, Maciej Ornat, Aleksandra Piotrowska, Aleksandra Nowak, Piotr Dzięgiel: Correlation of Expression of Tenascin C and Blood Vessel Density in Non-small Cell Lung Cancers** Anticancer Res. 2018 38(4): 1987-1991 doi:10.21873/anticancerres.12436

IF: 1.937 Pkt. MNiSW / KBN: 25.0

Mój udział procentowy, który szacuję na 60 % polegał na współtworzeniu koncepcji projektu badania, przygotowaniu preparatów badań dotyczących ekspresji tenascyny C w tkankach raków niedrobnokomórkowych, zebraniu danych klinicznych, opracowaniu wyników, napisaniu i korektach manuskryptu, prowadzeniu korespondencji z edytorem.

Omówienie celu naukowego cyklu prac wraz określeniem ich ewentualnego wykorzystania

Geneza podjętych badań

We wczesnych stopniach zaawansowania raka pierwotnego i wtórnego, czyli przerzutowego, leczenie chirurgiczne daje największe szanse wyleczenia. W obu przypadkach odsetek wyleczalności, mierzonej 5 letnim okresem przeżycia, waha się w szerokich granicach od 10 do 70%. W Polsce w przypadkach pierwotnego raka płuca, tylko w około 20% chorych, czyli około 3200 osób, jest poddanych zabiegowi resekcijnemu. Natomiast liczba leczonych chirurgicznie przerzutów do płuc jest trudna do oszacowania. Ogólna „wyleczalność” operacyjnego raka niedrobnokomórkowego płuca wynosi około 30%. Te niezadowalające wyniki skłaniają do poszukiwań doskonalszych sposobów wczesnej diagnostyki i nowych sposobów leczenia. Znajomość czynników rokowniczych jest niezbędna dla rzetelnej kalkulacji potencjalnych korzyści i zagrożeń leczenia chirurgicznego. Informacje te dotyczą leczenia zarówno nowotworów pierwotnych jak i wtórnych płuc. Oceny czynników prognostycznych opierają się na obserwacjach wyników terapii i badań biologii nowotworu. Zapotrzebowanie na markery nowotworowe i nowe czynniki rokownicze, pomocne w kwalifikacji do leczenia chirurgicznego, skłoniły mnie do podjęcia badań, których część złożyłem w cyklu publikacji.

Wprowadzenie

Podjąłem się badania wybranych molekularnych czynników prognostycznych w nowotworach płuc. We wcześniej przeprowadzonych badaniach glikoproteina - tenascyna C (TNC) oraz enzymy: galaktozylotransferaza ceramidowa 8 (UGT8) i kinaza pirogronianowa 2 (PKM2), wykazywały odmienną ekspresję w komórkach nowotworowych w stosunku do zdrowych tkanek. Ich rola w poszczególnych procesach rozwoju raka płuca lub przerzutu do płuca nie jest całkowicie wyjaśniona. Dlatego uzasadnione jest podjęcie dalszych badań tych cząsteczek, jako czynników diagnostycznych i rokowniczych.

Porównywalnie w komórkach guzów pierwotnych płuca, jak i w komórkach nowotworów przerzutowych można zaobserwować zjawiska proliferacji, inwazji czy

angiogenezy, wpływające na rozwój i dalszy postęp choroby. Analogicznie, jak w guzach pierwotnych, przerzuty do płuc w początkowym okresie przebiegają bezobjawowo. Podobnie też resekcje chirurgiczne przerzutów, w wybranych wg obowiązujących kryteriów przypadkach, dają możliwości wyleczenia. Zarówno w leczeniu pierwotnych raków płuca, w jak i przerzutów do płuc, wyniki leczenia chirurgicznego wynoszą przeciętnie 30% przeżyć w okresie 5- letnim.

Kliniczno-patologiczne czynniki prognostyczne terapii w nowotworach pierwotnych i wtórnych płuc zostały już wielokrotnie opisane. Wynikiem licznych badań opartych na wynikach wielośrodkowych badań i metaanalizach na dużych grupach pacjentów jest systematyczne aktualizowanie kolejnych edycji kwalifikacji TNM w niedrobnokomórkowym raku płuca, czy publikacje wyników Międzynarodowego Rejestru Przerzutów do Płuc (*ang. International Registry of Lung Metastases (IRLM)*). Ustalono, że na rokowanie pacjentów mają wpływ czynniki takie jak: typ histologiczny nowotworu pierwotnego, wielkość guza, lokalizacja w płucach, obecność przerzutów do węzłów chłonnych, ilość ewentualnych ognisk przerzutowych do narządów odległych oraz dane epidemiologiczne takie jak m.in. wiek pacjentów. Nadal jednak niektóre obserwacje prostych parametrów klinicznych lub laboratoryjnych mogą przynieść nieoczekiwane i przydatne praktycznie informacje, wytyczając kierunki dalszych badań.

Cele badawcze cyklu prac:

Celem cyklu prac była ocena wybranych czynników prognostycznych i ekspresji niektórych markerów w nowotworach płuc leczonych chirurgicznie. Badania dotyczyły pierwotnego raka niedrobnokomórkowego jak i nowotworu przerzutowego do płuc z ognisk pierwotnych o różnym umiejscowieniu narządowym.

W cyklu można wydzielić dwie części: kliniczną (A) i biologiczną (B). W części klinicznej badanie stanowiło obserwację przebiegu leczenia wtórnych nowotworów płuc w zależności od stopnia odżywienia - otyłości. W części biologicznej prace badawcze dotyczyły zmian w funkcji metabolicznej i ekspresji wybranych glikoprotein lub enzymów komórek nowotworowych niedrobnokomórkowego raka płuca i jego przerzutów.

Istotnym celem była próba określenia roli ekspresji enzymu – galaktosoceramidotransferazy (UGT8) w patologii i rokowaniu pierwotnego niedrobnokomórkowego raka płuca i jego ogniska wtórnego w tym samym narządzie, czyli płucu.

Kolejnym obiektem badań było ustalenie związku ekspresji kinazy pirogronianowej (PKM2) z rozwojem gruczołowej i płaskonabłonkowej postaci histologicznej raków płuc. Dalszym celem badania było określenie ewentualnego znaczenia diagnostycznego i rokowniczego PKM2.

Następnym celem badań, związanym z angiogenezą, było określenie roli tenascyny C w nowotworzeniu naczyń krwionośnych i jej związku z agresywnością niedrobnokomórkowego raka płuca i wpływu na przebieg kliniczny choroby.

Omówienie prac

A. Część kliniczna - Wybrane kliniczne czynniki wpływające na przeżycie po resekcji guzów pierwotnych i wtórnych płuc.

Na podstawie analizy przeprowadzonej w pracy: danych kliniczno- patologicznych pacjentów z nowotworami pierwotnymi i wtórnymi płuc analizowałem kliniczne czynniki rokownicze. Większość z nich, jak między innymi wiek, stopień zaawansowania nowotworu, stosowane leczenie, zostały przebadane i opisane wcześniej. Jednak wpływ odżywienia chorych z przerzutami nowotworowymi do płuc okazał się w moich obserwacjach dotychczas niedocenianym czynnikiem rokowniczym. We wcześniej przeprowadzonych analizach przebiegu nowotworów pierwotnych stwierdzono, że otyłość, mimo że sama w sobie jest czynnikiem sprzyjającym onkogenezie, to jednak w sytuacji wystąpienia nowotworu korzystnie wpływa na dla wyniki leczenia. Rola otyłości w przypadkach przerzutów do płuc poddanych radykalnej resekcji nie została, jak dotychczas, zbadana. Postawienie hipotezy o korzystnej roli otyłości w leczeniu chirurgicznym przerzutów do płuc oparłem na obserwacjach dużej grupy pacjentów z przerzutami różnych narządów, leczonymi radioterapią. Celem pracy było wykazanie roli otyłości na przebieg choroby i wyniki leczenia chirurgicznego przerzutów do płuc.

Przeprowadziłem analizę 97 przypadków chorych poddanych radykalnej metastazektomii płucnej. W grupie badanej znalazło się 40 chorych otyłych, ze wskaźnikiem masy ciała BMI równym bądź większym niż 30 kg/m². U tych pacjentów,

w porównaniu z nieotyłymi, czas przeżycia wolnego od nawrotu choroby (DFI, *ang. disease-free interval*) okazał się być dłuższym. Wynosił on u otyłych średnio 82,1 miesiąca i nieotyłych 43,0 miesiąca (przy $p < 0,05$). Co ważniejsze, ogólny czas przeżycia (OS – *ang. overall survival*) po zabiegu resekcji guza pierwotnego był znacząco dłuższy. Okres ten wynosił w grupie otyłych średnio 110,7 i nieotyłych 69,9 miesiąca, (przy $p < 0,05$). Czas przeżycia liczony od resekcji przerzutów również okazał się być dłuższy u chorych z nadwagą i otyłych – wynosiło on średnio 29,4 miesiąca. Natomiast u chorych z wagą normalną czas ten trwał przeciętnie 20,2 miesiąca ($p < 0,05$). Powyższe obserwacje są nowymi, dotychczas nie opisywanymi w publikacjach i przemawiają za protekcyjnym wpływem otyłości na długość czasu przeżycia po leczeniu chirurgicznym chorych z przerzutami do płuc. Wnioski te mogą mieć dwa bardzo praktyczne zastosowania.

W pierwszej kolejności uzyskane badaniem informacje ułatwią szerszą kwalifikację chorych otyłych do metastazektomii płucnej. Tutaj otyłość nie powinna stanowić przeciwwskazania, nawet względnego, do zabiegu resekcyjnego.

Ponadto, mając na uwadze wyniki, wykazanego w pracy, całkowitego dłuższego przeżycia osób otyłych, licząc od pierwotnego nowotworu, warto było by rozważyć hiperalimentację, jako terapię wspomagającą. Mogłoby to oznaczać wdrożenie diety przekraczającej dzienne zapotrzebowanie kaloryczne, na przykład u chorego mężczyzny prowadzącego tryb życia o umiarkowanej aktywności fizycznej (większe niż $[2200 + \text{waga ciała} \times 10]$ kcal).

Wyniki tej analizy zostały szerzej opisane w publikacji: **Adam Rzechonek, Piotr Błasiak, Grzegorz Pniewski, Piotr Cierpikowski, Monika Mościbrodzka, Maciej Ornat, Jędrzej Grzegorzówka, Anna Brzecka: Influence of Obesity on the Course of Malignant Neoplastic Disease in Patients After Pulmonary Metastasectomy.** In Vivo. 2018 Jan-Feb; 32(1): 197-202 zostały opublikowane w czasopiśmie IN VIVO (poz. 3 punkt. I A zał.1a/II).

B. Część biologiczna - Wybrane molekularne czynniki rokownicze w raku płuca związane z przerzutami.

1. Czynniki wpływający na tworzenie przerzutów raka płuca.

Badania literaturowe wykazują, że niekontrolowany rozrost komórek nowotworowych (prolifercja), w okresie progresji, skutkuje odrywaniem się komórek nowotworowych, ich przenikaniem do krążenia i tworzeniem przerzutów. Towarzyszą temu procesy angiogenezy.

Wykazano, że spośród kinaz odpowiedzialnych za gospodarkę lipidową, enzym UGT8 wykazuje związek z wyższą proliferacją i ograniczeniem apoptozy. Zwiększona ekspresja UGT8 skutkowała gorszym rokowaniem.

Postawienie hipotezy o udziale kinazy UGT8 w progresji, tworzeniu przerzutów raka płuca oparłem na wcześniejszych obserwacjach raka gruczołu piersiowego. Zarówno na doświadczalnym modelu mysim, jak i u człowieka wykazano, że wyższa ekspresja enzymu UGT8 wiązała się ze zwiększonym ryzykiem przerzutów do płuc oraz z nasileniem proliferacji i mniejszą liczbą komórek apoptotycznych. Sugerowało to też ułatwianie przeżycia przerzutowych komórek nowotworowych w odległych narządach. Dotychczas nie wyjaśniono roli UGT8 w proliferacji i migracji komórek pierwotnych raków płuc i ich przerzutów. Wcześniej wykazano, że wyższa ekspresja enzymu UGT 8 w raku gruczołu piersiowego wiąże się ze zwiększonym ryzykiem przerzutów do płuc. Podobnie, w doświadczalnym modelu mysim, złożonym z przerzutowych komórek raka piersi, autorzy potwierdzili związek aktywności UGT8 z metastazogenezą. Pierwszym celem badania było wykazanie obecności enzymu UGT8 w guzach pierwotnych i przerzutowych raka płuca. Drugim celem było wykazanie znaczenia prognostycznego tego enzymu.

Materiał badawczy pracy: **Adam Rzechonek**, Aleksandra Kamińska, Piotr Mamczur, Arkadiusz Drapierski, Władysław Budzyński: **Limited Clinical Significance of Dimeric Form of Pyruvate Kinase as a Diagnostic and Prognostic Biomarker in Non-small Cell Lung Cancer** Adv.Exp.Med.Biol. 2016 Vol.955: Neuroscience and respiration: Pathobiology of pulmonary disorders; s.51-57, stanowiła grupa 19 pacjentów, u których udało się zebrać reprezentatywny materiał histopatologiczny guzów

pierwotnych i przerzutów do płuc pierwotnego raka płuca. Chorych tych wybrano z grupy 49 pacjentów operowanych, co najmniej dwukrotnie z powodu pierwotnego i nawrotowego guza płuca. Badanie przeprowadzono metodami immunohistochemicznymi. Stwierdziłem ekspresję UGT8 w 68, 4% przypadków - pierwotnych guzów płuca. Ekspresja tego enzymu w grupie przerzutów okazała się jeszcze częstsza i występowała w 82,2%. Korelacja pomiędzy ekspresją UGT8 w guzie pierwotnym i jego przerzucie do płuc była już widoczna na poziomie $r=0,478$, przy $p<0,05$. Ekspresja UGT8 zarówno w nowotworach pierwotnych czy wtórnych nie korelowała z długością przeżycia. Zatem nie wykazałem, że w badanej grupie przerzutowego raka płuca, ekspresja UGT 8 miała znaczenie prognostyczne. Jednak częstsze występowanie UGT8 w guzach wtórnych sugeruje związek tego enzymu z procesem powstawania przerzutów. Stanowi to zachętę do dalszych badań nad udziałem enzymu UGT8 w metastazogenezie raka płuca-poszukiwań ukierunkowanych na lecznicze zahamowanie aktywności tego enzymu.

Badanie to, którym kierowałem, było finansowane z grantu uczelnianego nr ST 385.

Wyniki obserwacji były opublikowane w czasopiśmie międzynarodowym (poz. 1 punktu IA załącznika 1a/II) i na konferencjach naukowych (poz. 1 punktu IXA, i poz. 1 punktu IXB załącznika 1a/II).

2. Czynniki wpływający na przetrwanie nowotworu

Spośród wielu procesów umożliwiających przetrwanie nowotworu w środowisku gospodarza, a następnie jego rozrost wymienić można trzy grupy zjawisk, Są nimi: oporność na niedotlenienie (z łatwiejszym przejściem na przemiany beztlenowe), zahamowanie procesu apoptozy, a w dalszym okresie wzrostu —zdolności angiogenetyczne nowotworu.

Publikacja: Adam Rzechonek, Aleksandra Kamińska, Piotr Mamczur, Arkadiusz Drapierski, Władzysław Budzyński: **Limited Clinical Significance of Dimeric Form of Pyruvate Kinase as a Diagnostic and Prognostic Biomarker in Non-small Cell Lung Cancer** Adv. Exp. Med. Biol. 2016 Vol.955: Neuroscience and respiration: Pathobiology of pulmonary disorders; s.51-57, stanowiła próbę oceny przydatności diagnostycznej i

prognostycznej oznaczeń tej formy kinazy pirogronianowej w dwóch najczęstszych postaciach histologicznych, płaskonabłonkowej i gruczołowej, niedrobnokomórkowego raka płuca. W tkankach zdrowych, w warunkach fizjologicznych, przy zwiększonym zapotrzebowaniu i niedostatecznej podaży tlenu dochodzi do nasilenia reakcji beztlenowych. W tkankach nowotworowych zachodzi fenomen Wartburga, gdzie przemiany beztlenowe zachodzą częściej i niekoniecznie związane są z niedoborem tlenu. Kinaza pirogronianowa jest enzymem biorącym udział w beztlenowym rozkładzie glukozy. Podstawowym metabolitem tej przemiany jest pirogronian. W zdrowych komórkach występuje aktywna metabolicznie izoforma tetrametrowa kinazy pirogronianowej. W tkankach nowotworowych występuje zaś forma dimerowa - słabo aktywna metabolicznie w warunkach fizjologicznych. Obecność w surowicy tej nieaktywnej, pozbawionej właściwości katalitycznej, postaci dimerowej (M2) kinazy, inaczej tumor M2-PK – (*ang. PKM2 - Pyruvate Kinase M2*) może sygnalizować aktywne zmiany nowotworowe. Ekspresja tej formy kinazy jednocześnie chroni komórki rakowe przed apoptozą. Wyniki wcześniejszych badań wskazują na aktywność PKM2 w intensywnie proliferujących tkankach, a więc w guzach nowotworowych, ale też w tkankach objętych przewlekłym stanem zapalnym. Na temat roli diagnostycznej kinazy pirogronianowej w raku płuca nie było dotychczas jednoznacznych doniesień.

Przyjąłem hipotezę, że ekspresja kinazy pirogronianowej koreluje z rozwojem raka płuca, czyli stopniem jego zaawansowania i gorszym rokowaniem. Drugim założeniem było stwierdzenie różnic w aktywności PKM2 pomiędzy postacią płaskonabłonkową i bardziej agresywną postacią gruczołową raka płuca.

Badanie przeprowadziłem na grupie 65 pacjentów; w tym 45 operowanych, chorych na gruczołowy lub płaskonabłonkowy typ raka płuc i 20 osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolną, bez choroby nowotworowej i niepoddawanych ingerencji chirurgicznej. Aktywność enzymatyczną kinazy pirogronianowej oznaczono metodą spektrofotometryczną. Próbkę krwi pobierano w grupie badanej przed zabiegiem operacyjnym.

Udało się wykazać, że w badaniach laboratoryjnych (*in vitro*) wzrost aktywności PKM 2 średnio o 133, 9% w 24 rakach gruczołowych i 136% w 21 nowotworach płaskonabłonkowych. Wyniki te znamienne różniły się w stosunku do grupy kontrolnej. Różnice te przy raku gruczołowym wynosiły 16, 18%, ($p = 0, 003$), a raku

płaskonabłonkowym 21, 32% ($p = 0, 0025$). Porównywane aktywności PKM2 w rakach płaskonabłonkowych i gruczołowych nie różniły się istotnie statystycznie ($p = 0, 4727$). Tak więc nie wykazałem różnic aktywności PKM 2 w zależności od postaci histologicznej. Ograniczeniem badania była relatywnie niewielka ilość badanych w wyższych stopniach zaawansowania. Było to wynikiem kwalifikacji chorych do zabiegu resekcyjnego. Z tego względu oznaczenie czułości testu PKM2 w wyższych stadiach było niemiarodajne. W badaniach zależności aktywności PKM-2 od stopnia rozwoju nowotworu, wykazano dodatnią korelację dla grupy raków płuca w o większej masie guza. Uwidaczniało się to zwłaszcza w różnicach statystycznie znamiennej ($p = 0, 019$) wzrostów aktywności PKM2 pomiędzy nowotworami stopnia T1 (do 3 cm średnicy) - wzrost aktywności średnio 21, 3 % i T2 (od 3 do 7 cm) - wzrost aktywności przeciętnie o 40,4%. Wiadomo jednak, że rozpoznanie nowotworu płuca w wyższym stadium zaawansowania jest już opóźnione. Wówczas wyniki leczenia resekcyjnego są niezadowolające – wynoszą ok. 10% przeżyć 5-letnich, a w wielu wypadkach nowotwór jest staje się nieoperacyjny. Wyniki prezentowanej pracy wykazują udział PKM2 w progresji nowotworu, ale też determinują ograniczoną wartość oznaczania, PKM2, jako markera wczesnych postaci raka płuca. Zostało to po raz pierwszy szczegółowo opisane w publikacji (**poz. 2 punkt IA zał. 1a/II**) i prezentowane na konferencji międzynarodowej (**poz. 2 punkt IXA. zał. 1a/II**).

Badanie to było finansowane z grantu uczelnianego nr ST 384, którego byłem kierownikiem.

3. Angiogeneza w nowotworach płuca

Angiogeneza nowotworowa jest procesem niezbędnym do rozwoju zarówno raka pierwotnego, jak i przerzutowego. Wiele białek, specyficznych dla nowotworu, zaangażowanych jest w proces angiogenezy, a niektóre z nich stały się celami terapeutycznymi. Poszukiwanie i wykrycie nowych białek zaangażowanych w tworzenie naczyń guza umożliwi, w dalszej konsekwencji, zwiększenie spektrum działania leków hamujących neoangiogenezę. Białka te, których przykładem może być tenascyna C (TNC), występują w okresie embriogenezy w tworzeniu układu krwionośnego. Wykrywane one są też są w miejscach gojenia ran. W warunkach fizjologicznych u dorosłego człowieka występują one w ilościach śladowych. Wykryto je natomiast w nowotworach różnych narządów, a ich obecność wiąże się z gorszym

rokowaniem. TNC występuje w raku sutka i w raku płuc, w nowotworach kości chrząstek, raku trzustki, pęcherza moczowego i w glejakach. Proteina ta być może poprzez swoje właściwości angiogenne zwiększyć potencjał proliferacyjny guzów i zdolność do migracji. TNC w raku trzustki, może działać antyapoptotycznie.

Związek ekspresji tenascyny-C z procesami angiogenezy w rakach niedrobnokomórkowych płuc pozostaje jednak stosunkowo słabo poznany. Dotychczas badano korelację procesów neowaskularyzacji głównie z osoczymym stężeniem tenascyny C, a nie poziomem jej ekspresji w guzach nowotworowych.

Przyjąłem hipotezę, że wzmożona ekspresja TNC wiąże się z nasileniem angiogenezy a w dalszej konsekwencji gorszym rokowaniem.

W publikacji: Adam Rzechonek, Jędrzej Grzegorzółka, Piotr Błasiak, Maciej Ornat, Aleksandra Piotrowska, Aleksandra Nowak, Piotr Dziegiel: **Correlation of Expression of Tenascin C and Blood Vessel Density in Non-small Cell Lung Cancers** Anticancer Res. 2018 38(4): 1987-1991 doi:10.21873/Anticanres.12436, podjąłem próbę analizy ekspresji TNC w ocenie immunohistochemicznej gęstości naczyń krwionośnych w skrawkach histologicznych guzów płuca. Do badania wykorzystano przeciwciała CD31 i CD34. Udało się wykazać pozytywną cytoplazmatyczną reakcję immunohistochemiczną (HIC) tenascyny-C u 83 chorych, czyli w 82, 17% przypadków guzów NSCLC (niezależnie od postaci histologicznej). Kolejnym wynikiem było stwierdzenie istotnie wyższej ekspresji tego markera w przypadkach stopnia złośliwości G2, w porównaniu do stopnia G1 oraz trend wzrostowy w stopniu G3. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w przypadku analizy gęstości naczyń CD34-pozytywnych z takimi czynnikami, jak: cecha G, stopień T, płeć, czy czas przeżycia pacjentów.

Nowym, dotychczas nieopisywanym, zjawiskiem okazała się dodatnia korelacja tenascyny-C z gęstością naczyń: naczyń CD31-pozytywnych na średnim poziomie ($r=0,456$, $p<0.0001$, test korelacji Supermana), oraz naczyń CD34-pozytywnych na niższym poziomie ($r=0,296$, $p<0.01$). Wyniki przeprowadzonych obserwacji wskazują jednoznacznie na związek tenascyny-C z progresją NSCLC, określając ją, jako potencjalny czynnik prognostyczny, związany z angiogenezą. Wskazywanie tenascyny C, jako markera nowotworowego raka wymagałoby jednak dalszych prospektywnych

badania. Przemawiają za tym wcześniejsze obserwacje sugerujące znaczenie procesu degradacji tej glikoproteiny w podścielisku i zauważalnej roli diagnostycznej produktów jej rozpadu wykrywanych w surowicy.

Badanie to może znaleźć praktyczne zastosowanie w bardziej zdecydowanej, radykalniejszej kwalifikacji chorych do operacji tych postaci nowotworu. Dotyczyć to może tych stadiów zaawansowania, w których angiogeneza jeszcze nie rozwinęła się w stopniu istotnie pogarszającym wyniki.

Podsumowując, w pracy tej udało się jednoznacznie wykazać:

- związek tenascyny-C z agresywnością raka niedrobnokomórkowego płuca, wyrażanej w stopniach złośliwości histologicznej nowotworu G,
- dodatnią korelację tenascyny-C z gęstością naczyń CD31 oraz CD34 pozytywnych, co może wskazywać na związek z angiogenezą nowotworową raka płuca.

Wyniki analizy zostały przedstawione w publikacji (poz. 4. punktu IA załącznika 1a/II). Powyższa publikacja stanowi czwartą składową cyklu.

Podsumowanie najważniejszych osiągnięć badawczych zawartych w cyklu prac.

Najważniejsze wnioski wynikające z cyklu prac:

1. Uzyskane obserwacje czasu przeżycia chorych z resekowanymi przerzutowymi nowotworami płuc mogą wskazywać na wpływ otyłości, (BMI, > 30) jako korzystnego czynnika predykcyjnego i prognostycznego.
2. Ekspresja UGT8 zarówno w nowotworach pierwotnych, jak i wtórnych (przerzutowych) raka płuca występuje synergistycznie (na poziomach odpowiednio: 68% i 82%). Jej poziom nie koreluje z przeżyciem. Z tych względów enzym ten, na obecnym poziomie badań, nie może być uwzględniany, jako czynnik diagnostyczny i prognostyczny pierwotnego i wtórnego nowotworu płuca.
3. Po raz pierwszy wykazano, że postać dimeryczna kinazy pirogronianowej w rakach płuca wykazuje wzrost in vitro aktywności metabolicznej w wyższych stopniach cechy T raków zarówno płaskonabłonkowych jak i gruczołowych. Wskazuje to na

udział PKM2 we wzroście nowotworu. Jednocześnie nasilenie ekspresji PKM2 w późnych stadiach NSCLC dyskwalifikuje jej wartość diagnostyczną.

4. Wyniki badań immunohistochemicznych wskazują na potencjalny związek tenascyny-C z angiogenezą raka płuca.
5. Badania enzymów UGT8 i PKM2 oraz tenascyny –C wykazują różnice w aktywności w nowotworach płuca. Te odmienności mogą zostać wykorzystane w dalszych badaniach nowotworów płuca w aspekcie poszukiwań nowych celów terapeutycznych.

ARzedoncz

5. Pozostała działalność naukowo- badawcza

Streszczenie:

Najbardziej istotna aktywność naukowo-badawcza, skutkująca publikacjami w okresie po uzyskaniu stopnia doktora, zawiera się w 5 grupach tematycznych:

1. Leczenie chirurgiczne deformacji lejkowatej klatki piersiowej (patrz str. 26).

Publikacja: Maciej Mraz, Ireneusz Pawlak, Adam Rzechonek, Małgorzata Mraz, Jerzy Kołodziej.: **Leczenie lejkowatej klatki piersiowej metodą Nussa** Fizjoterapia 2001 Vol.9 nr 1; s.10-12

Pkt. MNiSW/KBN: 0.500

Publikacja: Maciej Mraz, Ireneusz Pawlak, Adam Rzechonek, Małgorzata Mraz, Jerzy Kołodziej : **Metody leczenia lejkowatej klatki piersiowej** Fizjoterapia 2001 Vol.9 nr 2; s.38-41

Pkt. MNiSW/KBN: 0.500

Publikacja: Adam Rzechonek, Jerzy Kołodziej, Grzegorz Kacprzak, Maciej Mraz.: **Chirurgiczne leczenie deformacji klatki piersiowej - sposoby postępowania. Ocena porównawcza leczenia operacyjnego według Ravitcha oraz sposobem Nussa. Doświadczenia własne w materiale Wrocławskiego Ośrodka Torakochirurgii** Pol.Med.Rodz. 2004 T.6 z.3; s.949-958

Pkt. MNiSW/KBN: 3.000

Publikacja: Adam Rzechonek, Jerzy Kołodziej, Grzegorz Kacprzak, Maciej Mraz.: **Optymalizacja leczenia chirurgicznego deformacji lejkowatej klatki piersiowej - przegląd metod z porównaniem metody Ravitcha i Nussa na podstawie doświadczeń własnych** Pneumonol.Info 2007 T.4 nr 4; s.7-18 **Pkt NiSW/KBN: 3.000**

Publikacja: Adam Rzechonek, Jerzy Kołodziej, Paweł Łukaszewicz.: **The Nuss operation is the best method for surgical treatment of juvenile and adults. The surgical manners of treatment** *Plast.Rekonstrukt.Chir.* 2007 nr 2 (8); s.122-125

Pkt MNiSW/KBN: 1.000

Publikacja: Monika Bał-Bocheńska, Wojciech Kądziołka, Adam Rzechonek.: **Evaluation of the effects of rehabilitation after surgery using the Ravitch and Nuss methods: a case study** *Kardiochir.Torakochir.Pol.* 2016 T.13 nr 1; s.72-77

Pkt MNiSW/KBN: 14.000

Publikacja: Piotr Cierpikowski, Piotr Błasiak, Hanna Lisowska, Grzegorz Pniewski, Patric Le Pivert: **Surgical Correction of Pectus Excavatum by 7 the Nuss Procedure: A 15-Year Experience Study** *Adv.Exp.Med.Biol.* 2018 Mar 11. [Epub ahead of print]; doi: 10.1007/5584_2017_121

IF2016: 1.937 Pkt MNiSW/KBN: 25.000

2. Znaczenie ingerencji torakochirurgicznych w medycynie paliatywnej i w leczeniu jatrogennych lub nowotworowych niedrożności tchawicy i przełyku. (patrz str. 28).

Publikacja: G. Kacprzak, A. Majewski, Adam Rzechonek, Jerzy Kołodziej.: **Sposoby postępowania w nowotworowym wysięku opłucnowym** Wybrane zagadnienia z chirurgii 1999. T.3; pod red. Zygmunta Mackiewicza; Warszawa: Fundacja - Polski Przegląd Chirurgiczny, 1999; s.66-72 (Biblioteka Polskiego Przeglądu Chirurgicznego)

Publikacja: M.V. Sekela, V.V. Makarov, Adam Rzechonek.: **Paliativna torakal'na hirurgiâ = Palliative thoracic surgery**; 2nd ed., bilingu al Lviv : Spolom, 2014; 360 s. ISBN 978-966-665-881-7; Wyd.1 ukr. 2013 r., ISBN 978-966-665-881-7

3. Leczenie chirurgiczne przerzutów do płuc (patrz str. 30).

Publikacja: Adam Rzechonek, Jerzy Kołodziej, G. Lisowska, Jarosław Adamiak, O. Petrišin, S. Košak.: **Metastazi v legenâh: meža možlivostì hirurgičnogo likuvannâ** *Harkivs'ka Hirurgična Škola* 2009 nr 4.1(36); s.64-65

Pkt MNiSW/KBN: 1.000

Publikacja: Aleksandra Kamińska, Adam Rzechonek, Jerzy Kołodziej.: **Wskazania do radykalnego leczenia przerzutów nowotworowych do płuc w praktyce lekarza rodzinnego** Fam.Med.Prim.Care Rev. 2011 Vol.13 no.4; s.787-793

Pkt. MNiSW/KBN: 6.000

Publikacja: Konrad Pawełczyk, Marek Marciniak, Piotr Błasiak, Adam Rzechonek.: **Evaluation of prognostic factors in the surgical treatment of pulmonary metastases.** Contemp.Oncol. 2015 Vol.19 no.5; s.378-384

Pkt MNiSW/KBN: 14.000

Publikacja: Adam Rzechonek, E.V. Panchenko, V.V. Makarov, Yu.V. Ivanova, A.Yu. Bodrova.: **Osobennosti rentgenologičeskogo issledovaniâ u bol'nyh rakom legkogo i pri metastatičeskom poraženii legkih** Klin.Hir. 2016 no.7; s.36-40

Publikacja : Adam Rzechonek, Piotr Błasiak, Beata Muszczyńska-Bernhard, Konrad Pawełczyk, Grzegorz Pniewski, Maciej Ornat, Jędrzej Grzegorzówka, Anna Brzecka : **Metachronous lung cancer: clinical characteristics and effects of surgical treatment** Adv.Exp.Med.Biol. 2018 Vol.1039: Neuroscience and respiration Vol.36: Current concepts in medical research and practice; s.9-17

IF2016: 1.937 Pkt MNiSW/KBN: 25.000

4. Badanie dystrybucji środków hydrofobowych w guzach nowotworowych płuc (patrz str. 32 i 39).

Publikacja: Adam Rzechonek, Piotr Błasiak, B. Muszyńska-Bernhard, Jarosław Adamiak, Jędrzej Grzegorzówka, Maciej Majchrzak, W. Budzyński, P. Le Pivert.: **The bi-directional migration of a dye tracer injected at the edge of primary or secondary lung tumors during surgery. Initial study on 33 patients and clinical implications** Inter Collegas 2017 Vol.4 no.3; s.106-119

5. Badanie wrażliwości komórek nowotworów płuc na elektroporację i elektrochemioterapię (patrz str. 35 i 40).

Publikacja: Olga Michel, Julita Kulbacka, Jolanta Saczko, Justyna Mączyńska, Piotr Błasiak, Joanna Rossowska, Adam Rzechonek: **Electroporation with cisplatin against metastatic pancreatic cancer: in vitro study on human primary cell culture** BioMed Res.Int. 2018 Vol.2018; art.ID 7364539 [12 s.]

IF₂₀₁₆: 2.476 Pkt MNiSW/KBN: 25.000

Wyniki obserwacji i opracowań publikowane były w czasopismach z i bez impact factor lub jako pełnotekstowe referaty w materiałach zjazdowych lub prezentacje konferencyjne opisane w punktach II A i D załącznika 1 i punktach I A i B, II-V i IX załącznika 1a/I.

Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk medycznych

Moja działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora medycyny związana była z pracą w Oddziale Chirurgii Klatki Piersiowej Dolnośląskiego Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu. Była ona wynikiem doświadczeń uzyskiwanych w czasie pełnienia przeze mnie stacjonarnych i wyjazdowych, ostrych dyżurów torakochirurgicznych na region Dolnego Śląska i przyległych województw, pracy na bloku operacyjnym i pododdziałach pooperacyjnym i septycznym.

Aktywność naukowa koncentrowała się głównie na:

1. Urazach klatki piersiowej,
2. Zakażeniach w torakochirurgii i chorobach opłucnej,
3. Problemie bólu pooperacyjnego – główny temat badań.
4. Leczeniu chirurgicznym w guzów płuc, śródpiersia, rozedmy płuc i chorób opłucnej.

Ad 1. Urazy klatki piersiowej.

Przed powszechnym wprowadzeniem stabilizacji wewnętrznej¹, w wypadkach wieloodłamowych złamań żeber, z wytworzeniem okna kostnego, stosowana była chirurgiczna stabilizacja zewnętrzna rusztowania kostnego. Niejednokrotnie, zmuszony sytuacją kliniczną, wprowadziłem modyfikacje stabilizacji żeber z zastosowaniem długich prętów. Stabilizatory te używane były w chirurgii urazowo-ortopedycznej w leczeniu złamań kości kończyn. Inną praktyczną modyfikacją było zastąpienie ramki Fibaka Drewsa długą wymodelowaną szyną Kramera. Służyła ona do podwieszania złamanych fragmentów żeber lub mostka, częstokroć bez konieczności otwierania klatki piersiowej. Modyfikacje te znalazły wielokrotne zastosowanie praktyczne.

Drugim częstym zagadnieniem było ustalenie wskazań do torakotomii i wycięcia tkanki płucnej ze wskazań nagłych w przypadkach obrażeń klatki piersiowej. Przedstawiając konkretne przypadki kliniczne z własnych dyżurów, uczestniczyłem w zbieraniu i opracowaniu materiału do zbiorczych prezentacji zjazdowych (**poz. 8, 9, punktu VB, poz. 6, punktu IXA i poz. 1, 3, 4, 10, 30, 35, 45 punktu IXB. zał. 1a/I**).

W następnych latach, doświadczenia, które zdobyłem na dyżurach posłużyły, jako materiał dalszych prezentacji krajowych zjazdowych (**poz. 52, 69 punktu IXB zał. 1a/I**) **rozdziału w monografii (poz.3 punktu VB 1a/I)** i do wspólnej z autorami ukraińskimi monografii; „Stany nagłe w torakochirurgii (**poz. 1, 2 punktu, IVB zał.1a/I**)

Ad 2. Zakażenia w torakochirurgii

Kilkunastomiesięczna praca na oddziale septycznym skłoniła mnie do zwrócenia uwagi na problem zakażeń w chirurgii klatki piersiowej. Wyniki analiz czynników sprawczych, głównych zagrożeń powikłań infekcyjnych po zabiegach torakochirurgicznych przedstawiane były na konferencjach krajowych (poz. **4, 17 punktu Va.B i poz. 9, 14, 17, 27, 34, 35, 68 punktu IX B zał. 1a I**)

¹ Stabilizacja wewnętrzna wieloodłamowych złamań żeber polega na zastosowaniu oddechu mechanicznego i sedacji,

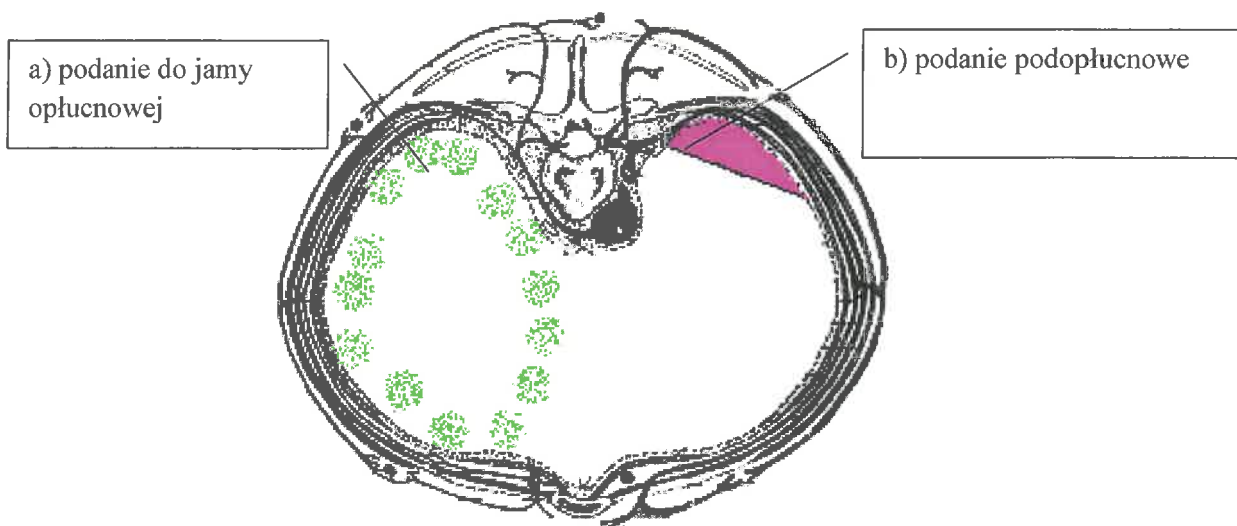
Ad 3. Monitorowanie i leczenie bólu pooperacyjnego.

Głównym tematem moich zainteresowań okazał się problem bólu w torakochirurgii. Obserwacje kliniczne jego patofizjologicznych następstw posłużyły stworzeniu nowej, metody pomiaru natężenia bólu po zabiegach torakochirurgicznych. Wcześniej wytypowano wiele parametrów określających ból. Są nimi reakcje psychiczne - odczucia subiektywne, ograniczenia ruchowe, reakcje wegetatywne i hormonalne objawiające się między innymi wysiewem adrenaliny, aldosteronu, wazopresyny. Objawami bólu są: wzrost częstości akcji serca, ciśnienia tętniczego, wydzielania potu i poszerzenie źrenic, zmniejszenia ruchomości kończyn, a w torakochirurgii - czynności mięśni oddechowych. Badanie tych reakcji i objawów w codziennym pomiarze bólu jest trudne i mało praktyczne. W wyniku analizy wieloczynnikowej 36000 pomiarów parametrów bólu (odczucia subiektywnego bólu, spirometrii, ciśnienia tętniczego, pulsoksymetri) - najistotniejszymi i użytecznymi przy łóżku chorego, czynnikami oceny bólu okazały się wywiad, z subiektywną oceną dolegliwości w dowolnej skali np. VAS² oraz badanie spirometryczne. Praktycznie, w badaniach bólu, wystarczającym parametrem spirometrycznym okazał się pomiar objętości wydechowej jednosekundowej (FEV1). Pomiary obu czynników: oceny bólu w skali VAS oraz określenie FEV1, muszą być używane w połączeniu.

Wyniki doświadczeń były publikowane na konferencjach krajowych (**poz. 5 punktu VB i poz. 7, 29, 31 punktu IXB** i międzynarodowych (**poz. 2, 22, 27, 38 punktu IXA załącznika 1a/I**).

Opracowana metoda pomiaru bólu dała mi narzędzie do badania redukcji bólu przy użyciu miejscowej analgezji przewodowej nerwów międzyżebrowych. Porównałem trzy grupy pacjentów; leczonych klasycznie lekami przeciwbólowymi i osobno lokalnym anestetykiem (Bupivacainą) podawanym do jamy opłucnowej lub do wytworzonej, śródoperacyjnie kieszeni w tylnej części jamy opłucnowej czyli do przestrzeni wytworzonej śródoperacyjnie pomiędzy opłucną ścienną a ścianą klatki piersiowej (Ryc.1).

² 10 punktowa skala wzrokowo-analogowa (*ang. VAS - Visual Analogue Scale*) umożliwia subiektywne określenie bólu przez badanego.



Ryc.1. Sposoby podania miejscowego analgetyku a) doopłucnowe, b) podopłucnowe, w sztucznie wytworzoną przestrzeń pod opłucną ścienną).

Metoda ta w wykonaniu torakochirurgów wówczas była nowością. Uzyskane korzystne efekty analgetyczne na grupie 80 chorych dały mi możliwość opracowania rozprawy doktorskiej; „Porównanie skuteczności analgezji pod- i doopłucnowej po torakotomiach”. Metoda analgezji podopłucnowej została obecnie przejęta przez anesteziologów i jest powszechnie stosowana, jako procedura analgezji przedoperacyjnej i pooperacyjnej. W anesteziologicznej odmianie metody stosowane jest wprowadzenie cewnika przezskórnie, przy użyciu igły Tuohy z dostępu przykręgosłupowego.

Wyniki prac były prezentowane na konferencjach krajowych (poz. 2, punktu V B oraz poz. 29, punktu IXB zał. 1a/I) i międzynarodowych, (poz. 16, punktu IXA zał. 1a/I).

Ad 4 Leczenie chirurgiczne guzów płuc, śródpiersia, rozedmy płuc, chorób opłucnej

Doświadczenia zespołu torakochirurgicznego i obserwacje własne stanowiły materiał do prezentacji konferencyjnych: „Guzy śródpiersia w materiale własnym” poz. 1 punkt V i poz. 3 punktu VB zał. 1a/I) i „Ocena wyników leczenia raka płuca w III stopniu zaawansowania”, „Wyniki leczenia olbrzymich torbieli powietrznych” (poz. 5 punktu IXB zał. 1a/I) czy „Postępowanie chirurgiczne u chorych z rozedmą pęcherzową płuc” (poz. 4 punktu IIIB poz. 3 punkt VB i poz. 8 punktu IXB zał. 1a/I). Osobno przedstawiałem doświadczenia ośrodka w ustalaniu wskazań do torakotomii w przebiegu leczenia odmy opłucnowej. Wyniki prac były prezentowane na konferencjach krajowych (poz. 6 punktu V B oraz poz. 11, 84, punktu IXB zał. 1a/I) i międzynarodowych, (poz. 12 punktu IXA zał. 1a/I).

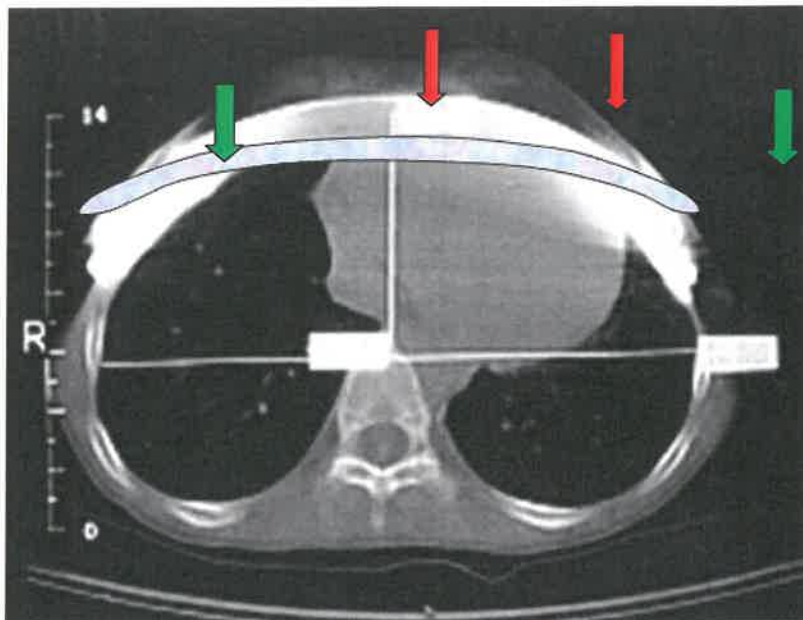
Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora zainteresowałem się następującymi zagadnieniami, jak:

1. Wyniki leczenia deformacji lejowatej przedniej ściany klatki piersiowej.
2. Przydatność procedur torakochirurgicznych w medycynie paliatywnej. W tej tematyce zawierają się też sposoby leczenia jatrogennych lub nowotworowych niedrożności dróg oddechowych i przełyku.
3. Wyniki leczenia chirurgicznego przerzutów do płuc.
4. Związany z tworzeniem przerzutów, zjawiskiem występowania komórek nowotworowych krążących we krwi w przypadkach niedrobnokomórkowego raka płuca.
5. Badania dystrybucji środków hydrofobowych w guzach płuc i ich otoczeniu wspomaganej kriodestrukcją.
6. Wrażliwość komórek nowotworów płuc na elektroporację i elektrochemioterapię.
7. Aspekty ekonomiczne leczenia wybranych schorzeń klatki piersiowej.
8. Ciekawe przypadki kliniczne.

Ad 1. Deformacje ściany klatki piersiowej.

Do poszukiwania lepszych metod operacji korekcyjnych skłoniły mnie obserwowane powikłania, dotychczas stosowanej w moim ośrodku, metody Ravitcha. Wśród rzadkich komplikacji wystąpił 1 przypadek martwicy trzonu mostka, jako wynik jatrogennego niedokrwienia kości. Zgodnie z ogólnymi trendami do ograniczenia rozległości operacji w mojej Klinice wdrożono metodę Nussa. Trudności śródoperacyjne, a także obserwacje wyników leczenia na przestrzeni kilku lat pozwoliły mi wprowadzić kilka modyfikacji tej metody. Były nimi: a) skrócenie długości sztaby, b) rutynowe założenie pętli ósemkowych po obu jej końcach, c) w wypadkach niestabilności implantu - wprowadzenie dodatkowego umocowania przy mostku. (Ryc.2) Zmiany te zapobiegały powikłaniu przemieszczania implantu przy jednoczesnej poprawie komfortu życia pacjentów. Modyfikacje metody Nussa prezentowano tę na konferencjach naukowych krajowych (poz. 43 punktu IXB zał. 1a/I) (Ryc.4).



Ryc.2. Proponowany sposób ułożenia sztaby implantu i miejsca umocowania, (strzałki zielone – miejsca standardowe, strzałki czerwone- miejsca awaryjne).

Poprawę bezpieczeństwa zabiegów, zwłaszcza przy dużej deformacji lub reoperacjach nawrotów, umożliwiło wprowadzenie dodatkowych dostępów operacyjnych w okolicy linii przymostkowej lub pod wyrostkiem mieczykowatym. Ponadto u pacjentów starszych lub osób dorosłych założenie dodatkowego implantu umożliwiło zmniejszenie naprężeń punktowych zagrażających złamaniem trzonu mostka.

Uzyskane doświadczenie w zakresie wyników, powikłań i zagrożeń związanych z metodą zaprezentowano w formie doniesień krajowych (poz. 13 punktu B. poz. 12, 20, 43, 65, 75, 76 punktu IXB i międzynarodowych (poz. 12, 20, 29, 30, 40, 48, 53, 56, 57 punktu IXA załącznika 1a/I) a także publikacjach (poz. 3 punktu IB) oraz „Early and long-term results of surgical, correction for pectus excavatum by Nuss procedure - a 15-year experience study.” Praca ta jest opublikowana (poz. 10 punktu IA zał. 1a/I). W ramach prac studenckiego koła naukowego wykazaliśmy możliwości, ale też zagrożenia stosowania tej metody u pacjentów powyżej 18 roku życia. Dodatkowo dokonałem przeglądu piśmiennictwa o operacji sposobem Nussa i przeprowadziłem porównanie z wcześniejszą i wtedy bardziej rozpowszechnioną metodą Ravitcha. Efektem tej aktywności były publikacje krajowe (poz. 1, 2 i 3 punktu IIIB zał. 1a/I), wykazujące wady i zalety obu tych sposobów operacyjnych.

Ad 2. Przydatność procedur torakochirurgicznych w medycynie paliatywnej i w leczeniu jatrogennych lub nowotworowych niedrożności tchawicy i przełyku.

Niedrożności tchawicy i dużych oskrzeli są poważnym problemem terapeutycznym. Ich ilość wzrasta wraz odsetkiem chorych wyleczonych ze skrajnych niewydolności narządowych, po przebytej przedłużonej intubacji czy też tracheostomii. Niedrożności spowodowane są przez łącznotkankowe blizny organizujące się w miejscu odleżyn od rurek dotchawicznych. Drugą grupę chorych stanowią nowotwory naciekające bezpośrednio lub uciskające drogi oddechowe.

Metody, a właściwie skojarzenia sposobów bronchoskopii interwencyjnej, które stosowałem, a następnie rozpowszechniałem na konferencjach specjalistycznych, składały się z:

1. Użycia implantów ściśle dopasowanych do warunków anatomicznych zwężeń i preferencji chorego i jego otoczenia. W tym miejscu wymienić należy indywidualne sposoby doboru dostępnych rurek intubacyjnych zbrojnych w sytuacjach skrajnych, wymagających zdecydowanych działań ratunkowych.

2. Skojarzenia metod termicznych i mechanicznych. (Prezentacja na zjazdach krajowych (**poz. 20, 23, 47, 50, 53 XIB zał. 1a/I**) i międzynarodowych (**poz. 10 punktu IIIA i poz. 10, 25 IXA zał. 1a/I**).

3. Stosunkowo bezpiecznego i nisko-kosztowego stosowania elektrokoagulacji wszystkich rodzajów zwężeń w oparach argonu. Prezentacje na zjazdach krajowych (**poz. 47 punktu XIB zał. 1a/I**) i międzynarodowych (**poz. 24, 34, 35 punktu IXA zał. 1a/I**)

4. Pierwotnego stosowania kriodestrukcji w zwężeniach nowotworowych i spowodowanych ziarniną. Kriodestrukcja została następnie stopniowo wyeliminowana z metod udrażniania drzewa oskrzelowego. Początkowy obrzęk tkanek oraz dość długi, kilkunastodniowy okres demarkacji, wywołanej przez kriodestrukcję, martwicy, dyskwalifikuje tą metodę. (Prezentacja na zjazdach krajowych (**poz. 20, 23 punktu IXB**) i międzynarodowych (**poz. 7, 10, 25 punktu XIA zał. 1a/I**))

5. Wprowadzenie enzymów proteolitycznych obecnie hialuronidazy do eliminacji tkanek bliznowatych, jako dotychczas niestosowanej w bronchologii, metody leczenia

zwężeń. Jest ona obecnie na etapie moich najnowszych i bardzo obiecujących badań klinicznych.

Innym problemem, z którym spotkałem się w praktyce, w czasie pełnienia konsultacji i operacji wyjazdowych i przeprowadzania operacji w innych ośrodkach, była konieczność wykonania intubacji tchawicy lub przełyku w przypadkach trwałego usztywnienia kręgosłupa szyjnego i niemożności wykonania skopi sztywnymi aparatami. Użycie opracowanej przeze mnie metody fiberoskopowej wprowadzania miękkich metalowych przewodnic, następnie poszerzadeł i markerów odległości i ostatecznie stentów umożliwia ich prawidłowe umieszczenie bez pomocy fluoroskopii. Jest to wykonalne nie tylko na bloku operacyjnym, ale też w warunkach oddziału intensywnej terapii. Metodę tę przedstawiałem na zjazdach zagranicznych (**poz. 32, 36 IXA zał.1a/I.**)

Problematykę nowotworowych schorzeń dróg oddechowych, przełyku, opłucnej i sposobów przedłużenia życia i poprawy jego komfortu można ująć w dotychczas nieobowiązującym pojęciu torakochirurgii paliatywnej. Działania z jej zakresu wykonywane są przez też przez specjalistów różnych dziedzin, ale nie doczekały się całościowego omówienia. Pojęcie torakochirurgii paliatywnej entuzjastycznie podchwycili moi wieloletni partnerzy - chirurdzy na Ukrainie, z ośrodków lwowskiego i charkowskiego. Ostatecznie zaowocowało to wspólną monografią: „**Paliatywna torakochirurgia**” wydana we Lwowie w 2014. Moj udział w tej publikacji oceniam na około 30-35% i jest on widoczny w rozdziałach **3.1, 3.9, 4.0 oraz 5.4.**

Kolejnym problemem terapeutycznym i tematem z zakresu medycyny paliatywnej były nowotworowe wysięki opłucnowe. Ilość płynu sprawiająca niewydolność oddechową oraz nawrotowy charakter schorzenia wymaga dodatkowych środków zaradczych. Drenaż i pleurodeza chemiczna opłucnej są obecnie podstawowymi sposobami terapii. Problemem praktycznym była konieczność wykonywania drenażu opłucnej - zabiegu wchodzącego w zakres tzw. małej chirurgii i następnie konieczność pielęgnacji drenu. Innym problemem był ból występujący przy samym podaniu środków obliterujących. Czynniki poprawiającymi wyniki i komfort leczenia okazały się: prawidłowa kwalifikacja chorych, użycie cienkich wymienialnych cewników opłucnowych, a w pleurodzie chemicznej, standardowe użycie anestetyków o działaniu miejscowym.

Wyniki analiz własnego materiału przedstawiono na konferencjach (**poz. 1 punktu VA, poz. 12, 13 punktu IXA i poz. 7, 18, punktu IXB zał.1a/I**) i w publikacjach (**poz. 6 punktu IIIB, poz. 1 punktu VB zał.1a/I**)

Ad 3. Leczenie chirurgiczne przerzutów nowotworowych do płuc.

We Wrocławskim Ośrodku Torakochirurgicznym od ponad 20 lat wykonywane są resekcje zmian wtórnych - przerzutowych do płuc. Od roku 2000 do dziś wspólnie z młodszymi kolegami buduję bazę danych chorych, którzy przeżyli operacje metastazektomii płucnej. Baza liczy ponad 480 pacjentów i jest nadal powiększana. Oprócz danych osobowych, gromadzone są informacje kliniczne dotyczące terminów operacji guza pierwotnego i przerzutowego, chorób współistniejących, rodzajów wykonywanych zabiegów, powikłań pooperacyjnych, ilości i wielkości przerzutów, położenia względem opłucnej, pobranych węzłów chłonnych wnek płucnych i śródpiersia, stopnia zaawansowania przerzutów w płucach wg kwalifikacji Komitetu Naukowego Międzynarodowego Rejestru Przerzutów do Płuc. Na podstawie informacji uzyskiwanych z Urzędu Ewidencji Ludności w Warszawie uzyskiwane są regularnie informacje o wynikach leczenia wyrażających się długością czasu przeżycia po wykonywanych zabiegach. Zgromadzone dane oraz przeprowadzone analizy stanowiły bazę licznych doniesień zjazdowych krajowych i międzynarodowych (**pozycje 31, 37, 39, 41, 43, 46, 49, 52 punktu IXA załącznika 1a/I i poz. 37, 38, 40, 44, 46, 49, 54, 56, 61, 62, 77, 79, 82, 83 punktu IXB załącznika 1 a/I**), pracach poglądowych (**poz. 9, 11 punktu IIIB załącznika 1a/I**)

Co więcej baza danych pacjentów z obserwacjami leczenia i powikłań oraz charakterystyką guzów stanowiła materiał do doktoratu; „ **Znaczenie czynników predykcyjnych i prognostycznych u chorych leczonych operacyjnie z powodu przerzutów nowotworowych do płuc – 10 lat obserwacji.**” Jestem promotorem pomocniczym tego doktoratu. Jestem także współautorem publikacji omawiającej czynniki prognostyczne metastazektomii płucnej: Konrad Pawełczyk, Marek Marciniak, Piotr Błasiak, Adam Rzechonek.: **Evaluation of prognostic factors in the surgical treatment of pulmonary metastases Contemp.Oncol. 2015 Vol.19 no.5; s.378-384** (**poz. 10 punktu IB zał. 1a/I**). Obserwacje wyników leczenia chirurgicznego przerzutów do płuc są nadal kontynuowane, a baza chorych jest regularnie powiększana przy udziale dr Błasiaka i moim.

Zebrane informacje o chorych kilkakrotnie operowanych we Wrocławskim Ośrodku Torakochirurgicznym z przerzutami z płuca do płuca i guzami metachronicznymi umożliwiły mi analizę wyników ich leczenia chirurgicznego.

Mimo, że nowe ogniska raka płuca w płucach po resekcji pierwotnego raka płuca stanowią zaledwie 1 -2 % przypadków, to w zebranych materiale - 49 chorych, udział raka metachronicznego wynosił aż 47%. W opracowaniu zwrócono uwagę na zjawisko stosunkowo częstego występowania raków metachronicznych w porównaniu do izolowanych przerzutów raka płuca do płuca. W obu przypadkach obowiązują odmienne standardy operacji; w nowotworach pierwotnych obowiązuje resekcja anatomiczna z usunięciem węzłów chłonnych wnąki i śródpiersia, a w przypadkach przerzutów wystarczająca jest resekcja nieanatomiczna, czyli mechaniczna z zachowaniem marginesu mięszu płucnego. Coraz częściej wskazuje się również na konieczność przeprowadzenia w tych przypadkach limfadenektomii. Doniesień omawiających problem wtórnych guzów płuc po zabiegach resekcyjnych jest stosunkowo niewiele. W pracy wykazano, że w obu grupach ponad połowa chorych z nowym ogniskiem nowotworu może być wyleczona. Wyniki odległe – przeżyć 5 letnich okazały się być stosunkowo wysokie w stosunku do danych z piśmiennictwa i wynosiły odpowiednia 60, 7% w przypadku guzów metachronicznych i 50, 9% po resekcji przerzutów. Wyniki te nie różniły się statystycznie. Jednocześnie wskazano na stosunkowo duży udział resekcji nieanatomicznej wykonywanej w obu analizowanych grupach; od 69 do 83%. Wynikał on z trudności w diagnostyce różnicowej pierwotnego raka płuca metachronicznego z nowotworem wtórnym-przerzutom. Rozpoznanie w praktyce sprowadza się do rutynowego badania śródoperacyjnego histopatologicznego, a to bardzo często jest niewystarczające. Ma to zwłaszcza znaczenie w przypadku raków gruczołowych, gdzie odróżnienie pierwotnego raka płuca od przerzutu pierwotnego raka z ogniska poza płucnego staje się niemożliwe w mikroskopie świetlnym. Otrzymane wyniki wskazują na konieczność wykonywania resekcji anatomicznej w przypadkach wątpliwych, co najprawdopodobniej poprawiłoby wyniki leczenia nowotworów metachronicznych. W rakach pierwotnych rozprzestrzeniających się w dużej mierze drogami chłonnymi, resekcja anatomiczna zwiększa radykalność zabiegu. Jednocześnie wykazano brak istotnego wpływu wieku, chorób współistniejących wielkości czy też lokalizacji wewnątrzpłucnej ognisk nowotworowych na rezultaty leczenia. Uzyskane wyniki zostały zaprezentowane w publikacji; **Adam Rzechonek, Błasiak P, Muszczyńska-Bernhard**

B, Pawełczyk K, Pniewski G, Ornat M, Grzegorzółka J, Brzecka A. Metachronous Lung Cancer: Clinical Characteristics and Effects of Surgical Treatment Adv.Exp.Med.Biol. 2018 Vol.1039: Neuroscience and respiration Vol.36: Current concepts in medical research and practice; s.9-17 (poz. 10 punktu IA zał.1a/I) i prezentacjach na zjazdach międzynarodowych (pozycja 52 punkt IXA) i krajowych (pozycja 84 punkt IX B załącznika 1a/I).

Ad 4. Nowotworowe komórki krążące we krwi, jako element diagnostyczny NSCLC

Wykrycie komórek nowotworowych, krążących metodą filtracji w próbkach krwi pacjenta stało się bardzo obiecującą metodą diagnostyczną w onkologii. Wspólnie ze specjalizującym się w moim ośrodku, profesorem Vladimirem Bobkiem pobieraliśmy materiał operowanych pacjentów między innymi międzybłoniaka opłucnej, raka przełyku i raka płuca. Próbkę następnie badane były w Pracowni Histochemii i Cytobiologii Uniwersytetu im. Karola w Pradze. Komórki nowotworowe posiadające większą średnicę zostały oddzielone od pozostałych komórek krwi na filtrze poliwęglowym, następnie poddane hodowli *in vitro*, na standardowym podłożu komórkowym. Obserwacje wykonane na bazie operowanych pacjentów pozwoliły wykazać wartość tej metody w diagnostyce chorób, a co więcej, w przygotowaniu materiału biologicznego do badań immunohistochemicznych lub genetycznych.

Wyniki tych obserwacji stanowiły treść publikacji **poz. 4, 5, 6, 7, 8 punktu IA zał.1a/I).**

Ad 5. Badania dystrybucji środków hydrofobowych w guzach płuc i ich otoczeniu wspomaganą kriodestrukcją.

Obiecującą badawczo problematyką były obserwacje rozprzestrzeniania się substancji hydrofobowych w obrębie guzów nowotworowych płuc. Dystrybucja środków rozpuszczalnych w wodzie nabiera nowych właściwości w skojarzeniu z kriodestrukcją.

Badanie barwienia guzów nowotworowych przeprowadzałem we współpracy merytorycznej z amerykańską firmą - Interventional Drug Delivery Systems and Strategies reprezentowaną przez dr Patryka le Piverta. Poprzednio wykazano, że w wyniku kriodestrukcji dochodzi do poprawy penetracji substancji płynnych w mrożonej

tkance, między innymi w wyniku uszkodzenia błon cytoplazmatycznych. Dodatkowo tworząca się w guzie kula lodowa sprawia, że podany w jej okolicę środek hydrofobowy rozprzestrzenia się po jej powierzchni. Umożliwia to penetrację w miejscach wybranych przez operatora – również na powierzchni zewnętrznej guza, czyli tam gdzie odbywa się proliferacja i migracja komórek nowotworowych. Nasze badanie miało miejsce w warunkach raka płuca. Celem pracy badawczej było uwidocznienie penetracji substancji hydrofobowych, a potencjalnie – leków cytostatycznych) w tkance nowotworu oraz w otaczającym zdrowym mięszu płucnym. Jako substancji penetrującej używano roztworu wodnego błękitu metylenowego MB (*ang. methylene blue MB*). Wstrzykiwano roztwór MB w brzeg resekowanego nowotworu płuc. Badano rozkład znacznika na granicy nowotwór - zdrowy mięsz płucny. Oceniano skuteczność techniki barwienia w miejscu i poza powstaniem kuli lodowej w guzie i także na granicy zdrowych i patologicznych tkanek. Dodatkowo próbowano uwidocznić płucne limfatyczne drogi przerzutowania. Badanie w wykonano *in vivo* i *ex vivo* na preparatach pooperacyjnych nowotworów płuca.

Przebydałem wraz z lekarzem Piotrem Błasiakiem 33 pacjentów: 31 z pierwotnymi rakami płuca i 2 przerzutami. Wykonaliśmy samą iniekcję ($n = 12$) lub w połączeniu z ogniskowym dwukrotnym zamrażaniem i rozmrażaniem ($n = 21$). Oceniliśmy dystrybucję w badaniu makro- i mikroskopowym.

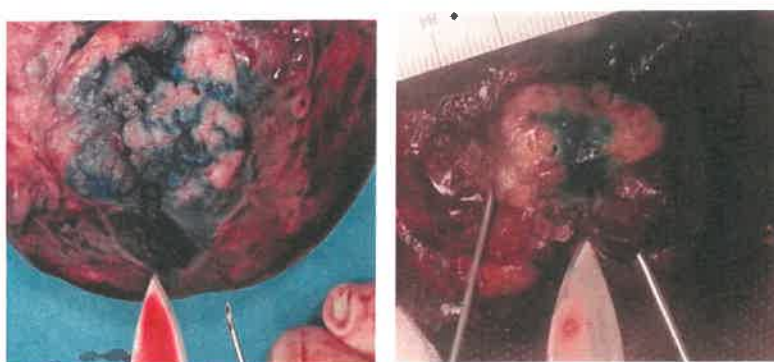
Zaobserwowaliśmy szybkie, intensywne zabarwienie na granicy guz- mięsz płucny i jednoczesne zabarwienie obu sąsiadujących struktur, guza i płuca. Wzorzec wybarwienia był heterogenny w guzach, ale homogeny na krawędzi inwazji i płuca. Obraz był niezależny od ogniskowego zamrożenia, typu nowotworu, wielkości lub stanu perfuzji krwi. (Ryc. 3)

Badanie mikroskopowe wykazało barwienie podścieliska, światła naczynia i komórek nowotworowych. Nie udało się uwidocznić barwienia węzłów chłonnych. Problemem okazało się szybkie wypłukiwanie barwnika MB w czasie procedur histopatologicznych, przez co nie udało się uwidocznić naczyń chłonnych w mięszu płucnym.



Ryc.3. Wzory i lokalizacje barwienia obserwowane w preparatach pooperacyjnych guzów płuc po wykonanej lobektomii i po iniekcji lub po zamrożeniu. Po lewej: odrębne wyznaczanie ROI równomiernego wybarwienia wewnętrznej i zewnętrznej krawędzi w porównaniu z niejednorodnym wybarwianiem, > 50%, rdzenia guza raka gruczołowego. Po prawej: jednolite i stałe wybarwienie krawędzi inwazyjnej (strzałki) i przyległego płuca odbiega od wzorów rdzeni nowotworu: mozaika w A, rozlew w B. MB rozkłada się po obu stronach krawędzi inwazji.

Dodatkowo zaobserwowano, że strefa zamrożenia guza, oprócz zmian destrukcyjnych, powoduje najprawdopodobniej zmiany ciśnień w okolicznych tkankach. Zmiany presji mogą sprzyjać dalszej penetracji znacznika w obręb rozmrażanego obszaru. To dwukierunkowe działanie lokalnego mrożenia składa się na efekt kuli lodowej polegający na dwukierunkowym rozprzestrzenianiu się znacznika w zależności od fazy mrożenia i rozmrażania masy guza. Powyższe obserwacje wynikają z analiz obrazów przekrojów barwionych guzów i okolicznych tkanek.(Ryc.4)



Ryc. 4. Rozprzestrzenianie się błękitu metylenowego w guzach nowotworowych; ostrze skalpela wskazuje miejsce po wprowadzonej kriosondzie, igła miejsce po iniekcji roztworu MB.

Zwrócono uwagę na czynniki modulujące penetrację znacznika. Nekroza tkanki wyraźnie poprawiała rozprzestrzenianie substancji, a nasilenie włóknienia w tkankach

znacznie pogarszało dystrybucję. Ponadto wykazano możliwość modulacji dystrybucji znacznika poprzez mechaniczne przemieszczanie kuli lodowej wraz guzem.

Wyniki pracy i obserwacji opublikowałem w czasopiśmie **Inter Collegas (poz. 11 punktu I B zał.1a/I)** i konferencjach międzynarodowych i krajowych odpowiednio **(poz.42, 50 punktu IXA i poz. 72, 73, 78 IX B zał.1a/I)**.

Badanie to było finansowane z grantu uczelnianego nr ST 790, którego byłem kierownikiem.

Jak dotąd nie udało mi się uzyskać pełnej dystrybucji znacznika w guzie, ani wybarwienia tkanek w stopniu wystarczającym do oceny mikroskopowej. Dodatkowo nie dokonałem pomiarów zmian ciśnień w okolicy mrożenia. Wymaga to dalszych badań (opisanych w następnym punkcie).

Skojarzenie kriodestrukcji powinno poprawić wyniki i stanowić przygotowanie do wdrożenia kolejnej, dotychczas niestosowanej metody poprawiającej przenikanie leków do komórek, którą jest elektroporacja.

Ad 6. Wrażliwość komórek nowotworów płuc na elektroporację i elektrochemioterapię.

Nawiązaniem do tematyki leczenia przerzutów nowotworowych do płuc stały się badania *in vitro* wrażliwości na cytostatyki komórek nowotworowych.

Od 2015 r. prowadzimy również współpracę z zespołem prof. Jolanty Saczko Katedry i Zakładu Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Nowością tutaj jest zastosowanie elektroporacji, czyli działania krótkotrwałego pola elektrycznego o niskiej intensywności – napięciu poniżej 1500V/cm, które powoduje przemijające zwiększenie przepuszczalności błon komórkowych. W eksperymentach laboratoryjnych, w weterynarii i w medycynie ludzi w leczeniu nowotworów skóry lub piersi, zjawisko to jest już wykorzystywane do poprawy penetracji cytostatyku do wnętrza komórek. To polepszenie przenikania leków tłumaczy się czasowym przerwaniem błony lipidowej komórki z utworzeniem porów, przez które łatwiej przedostają się woda i rozpuszczone w niej substancje hydrofilowe. Przeprowadzono już badania z zastosowaniem cisplatyny i bleomecyny na komórkach

innych nowotworów. Nie przeprowadzono takich prób na komórkach nowotworów pierwotnych i przerzutowych płuc i opłucnej. Badania te są szczególnie interesujące dla mnie i kolegów zajmujących się problematyką przerzutów nowotworowych do płuc. Policzalne i ograniczone do płuc zmiany wtórne mogą być z powodzeniem leczone chirurgicznie. Rozsiew nowotworowy jest leczony chemioterapią. Jej efekty są jak dotychczas niezadawalające.

Z materiału tkankowego nowotworów pierwotnych i wtórnych płuc udało się wyizolować komórki nowotworowe i założyć hodowle pierwotne. Komórki pozyskane z hodowli pierwotnych guzów płuc poddano elektroporacji i elektrochemioterapii, czyli elektroporacji w skojarzeniu z bleomycyną lub cisplatyną. Wyniki eksperymentu okazały się zaskakująco dobre. Efektem było 2 - 3 krotnie większe zahamowanie wzrostu hodowli z dominacją apoptozy,

Obiecujące wyniki badania *in vitro* oraz możliwości zastosowania elektroporacji i lokalnej chemioterapii wybranych jednostkach onkologicznych klatki piersiowej zaprezentowano na konferencjach krajowych (**poz. 19 punktu VB i poz. 80, 81, 85 punktu IXB zał.1a/I**) międzynarodowych (**poz. 51, 54, 55, 58, 59 punktu IXA zał. 1a/I**) i przygotowanych publikacjach. Efektem wspólnych badań są 2 artykuły: „Electroporation with cisplatin against metastatic pancreatic cancer – in vitro study on human primary cell culture” i „Elektrochemotherapeutic approach in multidrug resistant small cell lung cancer”. Pierwszy artykuł jest opublikowany w czasopiśmie *BioMed Research International*.

Badania wrażliwości komórek na chemioterapię przeprowadzane są na bazie grantu działalności statutowej uczelni Nr **ST C 010.16.086** : „**Ocena skuteczności elektrochemioterapii zastosowanej na hodowlach pierwotnych wyprowadzonych od pacjentów z rakiem płuca lub opłucnej.**” Jestem kierownikiem tego projektu.

Ad 7. Aspekty ekonomiczne leczenia wybranych schorzeń klatki piersiowej. Efekty ekonomiczne procedur torakochirurgicznych

Efektem mojej pracy organizacyjnej, jako dyrektora do spraw lecznictwa były analizy skutków finansowych i społecznych poszczególnych procedur torakochirurgicznych w tym:

1. operacji sposobem Nussa (**poz. 1 punktu IB i poz. 20 punktu IXA załącznika 1a/I**).
2. leczenia chirurgicznego wczesnych postaci raka (**poz. 14, 15 punktu IXB załącznika 1a/I**).
3. odległych ekonomicznych aspektów leczenia odmy opłucnowej (**poz. 24 punktu IXB załącznika 1a/I**).
4. możliwości wykorzystania inwazyjnych procedur torakochirurgicznych i pulmonologicznych w chirurgii ambulatoryjnej i wynikających z nich korzyści publikacja w czasopiśmie krajowym (**poz. 2 punktu IB, załącznika 1a/I**) i na konferencji międzynarodowej (**poz. 4 punktu IXB załącznika 1a/I**).

Ad 8. Ciekawe przypadki medyczne. Prezentacje przypadków.

W trakcie wieloletniej praktyki w Centrum Chorób Płuc, potem w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej oraz konsultacjach w kilku dużych szpitalach na terenie Dolnego Śląska natknąłem się na wiele interesujących i rzadkich chorób lub sytuacji klinicznych. Kilka najciekawszych – moim zdaniem, mających znaczenie praktyczne - opisałem i publikowałem, jak na przykład:

- Przypadek bogatolipidowego gruczolaka traktowanego zachowawczo w sytuacji podwyższonego ryzyka operacyjnego związanego z licznymi obciążeniami chorobami współistniejącymi, (**poz. 33 punktu XIA i poz. 60 punktu IXB zał. 1a/I**).
- Zebranie przypadków rzadkich nabłonkowych (**poz. 18 punktu VB poz. 3, 23 punktu IXA i 21, 22, 57 IXB zał. 1a/I**) i nienabłonkowych guzów płuca (**poz. 8, 11, 13, 21, 28 punktu IXA zał.1a/I**).
- Przypadek rozległego nacieku raka kolczysto- i wrzecionowato komórkowego skóry niszczącego przednią ścianę klatki piersiowej, jako stan zagrożenia życia (**poz. 45 punktu IXA i poz. 67 punktu IXB zał.1a/I**).
- Wspólna peracja z kardiochirurgami związanymi z naciekiem i penetracją do prawego przedsionka serca. (**poz. 70 punktu IXB zał.1a/I**).
- Własnej modyfikacji mioplastyki w leczeniu rozległego ubytku przedniej ściany klatki piersiowej okolicy nadbrzusza w przebiegu leczenia chondrosarcoma (**poz. 64 punktu IXB zał.1a/I**).

- Wola zamostkowego wymagającego 3 dostępów chirurgicznych (**poz. 1 punktu IIA zał.1a/I**).

Większością zagadnień, poza wymienionymi w punktach 1, 7 i 8 interesuję się do dnia dzisiejszego. Nie zamierzam obecnie zajmować się problematyką ekonomiczną i deformacjami klatki piersiowej.

Aktualnie prowadzone badania i plany naukowe

Elektroporacja wraz z kontynuacją rozprzestrzeniania znaczników w guzie stanowi obecnie jeden z moich głównych tematów badawczych. Na aktualnie prowadzone badania składają się:

1. Kontynuacja obserwacji wyników metastazektomii płucnej.
2. Kontynuacja badania dystrybucji związków hydrofobowych w nowotworach i mięszu płuc z uwzględnieniem dróg rozprzestrzeniania się komórek przerzutowych.
3. Dalsze badania efektywności elektroporacji na hodowlach komórkowych pierwotnego i wtórnego nowotworu płuc lub opłucnej.
4. Poszerzenie badań nad endoskopowym leczeniem niedrożności tchawicy i dużych oskrzeli o użycie enzymów proteolitycznych i skojarzenia ich z dotychczasowymi metodami mechanicznymi i ablacyjnymi.

Ad 1 Kontynuacja obserwacji wyników metastazektomii płucnej.

Zamierzam kontynuować obserwacje leczenia chirurgicznego przerzutów do płuc w ramach działalności Studenckiego Koła Naukowego. Badania te planuję uzupełnić o pełniejsze dane odnośnie: chorób współistniejących, pomiary wagi i wzrostu chorych, oraz określanie indeksu limfocytarno/monocytarne go i białek ostrej fazy w surowicy krwi operowanych chorych.

W dalszym etapie badań nad metastazektomią płucną planuję wdrożyć w naszej klinice metody ablacyjne niszczenia u chorych niekwalifikujących się do operacji.

Metody powyższe powinny być stosowane w skojarzeniu z dotychczasowymi sposobami leczenia zachowawczego - chemioterapią lub terapią celowaną molekularnie.

Ad 2. Badania dystrybucji związków hydrofobowych w nowotworach płuc.

Badania na preparatach pooperacyjnych z użyciem większych ilości kriosond i skojarzenia z podaniem miejscowym enzymów proteolitycznych.

Dotychczasowe eksperymenty z barwieniem nowotworów płuc umożliwiły opracowanie modelu *ex vivo* do dalszych badań. Świeży materiał tkankowy guza płuca wraz płatem po resekcji okazał wygodnym obiektem niezbędnym do oceny nowych technik iniekcji ukierunkowanych na krawędź nowotworu. Planuję kontynuować zmodyfikowane próby barwienia na większej grupie guzów nowotworowych płuc. Trzykrotne zwiększenie objętości znacznika z jednoczesnym użyciem mieszaniny błękitu metylenowego, czarnego tuszu histopatologicznego (Indian-Ink) i radiologicznego kontrastu jodowego (Lopamidol) umożliwi lepszą wizualizację makro, mikroskopową i radiologiczną penetracji środków w preparacie pooperacyjnym. Badania te zamierzam kontynuować w oparciu o dodatkową do już uzyskanej zgody komisji bioetycznej na użycie środka proteolitycznego – hialuronidazy. Byłby on podawany śródoperacyjnie do resekowanego nowotworu w skojarzeniu z kriodestrukcją. Szczególną uwagę chcę zwrócić na penetrację środków hydrofobowych - potencjalnych wodnych roztworów leków. Dotyczyłoby to przenikania do brzegów nowotworów, a zwłaszcza wypustek tworzących wieniec promienisty) oraz przepływu płucnymi naczyniami chłonnymi w kierunku wnętrza płuca. Te aspekty badania są na tyle ważne, że przetrwanie komórek nowotworowych w wypustkach i układzie chłonnym jest główną przyczyną wznów miejscowych. Oczekiwane rezultaty eksperymentów mogą okazać się użyteczne dla poprawy wyników skojarzonej lokalnej i systemowej chemioterapii nowotworów płuc. Badanie to w może też stanowić uzasadnienie podjęcia prób lokalnej eliminacji, oderwanych od guza w trakcie operacji, komórek nowotworu.

W dalszym etapie zamierzam poszerzyć o badania dystrybucji środków hydrofobowych, *in vivo*, w operowanych guzach płuc.

Potencjalnie korzystnym efektem, choć nie do końca przewidywalnym, byłoby zastosowanie techniki vacuum - wysokociśnieniowego odsysania wysięków i elementów martwiczych z łoży po kriodestrukcji guza nowotworowego. Badanie to jest wykonalne na modelach pooperacyjnych guzów płuca. Tego rodzaju badania byłyby nowatorskie w skali światowej, choć efekty są trudne do przewidzenia. Odpowiedzi na te pytania zamierzam szukać w przyszłych badaniach na modelach zwierzęcych.

Ad 3. Efektywność elektroporacji w hodowlach komórkowych pierwotnego i wtórnego nowotworu płuc lub opłucnej.

W dalszych pracach zamierzam położyć nacisk na zastosowanie elektroporacji w miejscowym stosowaniu tradycyjnych środków cytostatycznych jak i innych mniej toksycznych preparatów o słabym działaniu przeciwnowotworowym jak jony wapnia, znane od dawna roślinne preparaty z brzozy, (betulina i jej pochodne) lub jemioly (Isador). Badania te zamierzam kontynuować w pierwszej kolejności na liniach komórkowych nowotworów płuc i opłucnej, następnie na modelach mysich raka płuca lub opłucnej.

Ad 4. Endoskopowe leczenie niedrożności tchawicy i dużych oskrzeli z użyciem hialuronidazy.

Kolejnym badaniem, bardzo ciekawym i rokującym korzystne wyniki użyteczne w praktyce endoskopii inwazyjnej, jest określenie miejscowego użycie hialuronidazy do eliminacji pointubacyjnych blizn zwężających tchawicę. Dotychczasowe wyniki, wykorzystujące iniekcje hialuronidazy w kosmetologii, czy w zwężeniach bliznowatych przetyku są bardzo obiecujące. Dotychczas zastosowałem hialuronidazę w zwężeniach tchawicy u 4 pacjentów w skojarzeniu z innymi metodami utrzymania drożności tego narządu. Obecnie kontynuuję kolejne podania i obserwacje. Ich efekty są zachęcające.

Niektóre z powyższych badań zamierzam kontynuować we współpracy międzynarodowej z ośrodkami we Lwowie, Charkowie, Dreźnie oraz grupą - Interventional Drug Delivery Systems & Strategies w Jupiter w stanie Floryda USA.

ARzechowicz