

RECENZJA
rozprawy doktorskiej lek. med. Agnieszki Radowicz-Chil pt. "Ocena markerów angiogenezy VEGFR-2 i COX -2 w komórkach gruczolakoraka jelita grubego".

Brak specyficznych objawów choroby we wczesnych etapach rozwoju procesu nowotworowego jest jedną z przyczyn, że większość chorych na raka jelita grubego diagnozowanych jest w zaawansowanym stadium choroby. Możliwość zastosowania terapii celowanej, u chorych na raka jelita grubego, obliguje wiele ośrodków do wprowadzenia dodatkowych parametrów do oceny histopatologicznej materiału tkankowego. Do miarodajnej oceny klinicznego przebiegu choroby takie parametry jak: typ histologiczny, stopień różnicowania nowotworu oraz stadium zaawansowania raka jelita grubego są niewystarczające. W wielu przypadkach parametry kliniczno - patologiczne uzupełniane są oceną aktywności proliferacyjnej komórek nowotworowych, poziomem receptorów powierzchniowych, między innymi receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej, czy statusem genu KRAS. Aktualnie prowadzone są intensywne badania zmierzające do zdefiniowania prognostycznych i predykcyjnych parametrów biologicznych, zwiększających skuteczność terapii oraz ograniczających, zdolność komórek nowotworowych do tworzenia przerzutów.

Przygotowana przez lek. med. Agnieszkę Radowicz-Chil rozprawa doktorska obejmuje zagadnienia z zakresu biologii nowotworów dotyczące oceny markerów związanych z angiogenezą między innymi receptora dla naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGFR-2) oraz cyklooksyzgenazy-2 w komórkach raka jelita grubego. Zakres badań w oparciu, o które została przygotowana rozprawa doktorska wpisuje się, w obecnie prowadzone kierunki badań, zmierzające do określenia przydatności biomarkerów w terapii celowanej nowotworów ludzkich, w tym raka jelita grubego. We wstępie rozprawy doktorskiej, Autorka omawia mechanizmy odpowiedzialne za rozwój raka jelita grubego. Szczegółowo opisuje czynniki ryzyka rozwoju raka jelita grubego z uwzględnieniem sporadycznych i dziedzicznie uwarunkowanych nowotworów tego narządu. Podkreśla, że parametry kliniczne i patologiczne nowotworu nie zawsze pozwalają na pełną charakterystykę nowotworu i niezbędne są dodatkowe parametry tzw. biomarkery, które mogą stanowić uzupełnienie klasyfikacji histopatologicznej nowotworu. Zwraca uwagę na znaczenie procesu angiogenezy w rozwoju i progresji raka jelita grubego. Uzasadniając celowość podjętych w pracy badań, Doktorantka wyjaśnia, że poznanie mechanizmów warunkujących angiogenezę

umożliwiłoby włączenie leków antyangiogennych do terapii chorych na raka jelita grubego. Podkreśla, że działanie większości leków antyangiogennych nie zostało dokładnie poznane, dlatego istotna jest ocena biomarkerów związanych z procesem angiogenezy, celem zdefiniowania ich wpływu na przebieg stosowanej terapii. Cel pracy został przez Doktorantkę precyzyjnie określony, a z wytyczonych zadań badawczych jasno wynika na jakie pytania, Autorka oczekuje odpowiedzi, w oparciu o uzyskane wyniki badań.

Materiał do badań stanowiło 120 przypadków raka jelita grubego wyselekcjonowanych, w oparciu o wcześniej ustalone kryteria. Grupę kontrolną stanowił materiał w postaci niezmienionej błony śluzowej jelita grubego pochodzący od chorych z grupy badanej. Szczegółowa charakterystyka kliniczno-patomorfologiczna raków jelita grubego została przedstawiona w tabelach i na diagramach. Metodyka badań prawidłowo dobrana. Ocena gęstości mikronaczyń w badanym materiale umożliwiła Autorce wybór odpowiedniego fragmentu tkanki nowotworowej do dalszych badań z wykorzystaniem metody mikromacierzy. Zamieszczenie dokumentacji przedstawiającej sposób przygotowania mikrobloczka oraz mikrofotografii z barwień immunohistochemicznych, argumentują korzyści wpływające zastosowania metody.

Dobór technik i metod badawczych, które Doktorantka wykorzystwała do realizacji zadań badawczych wskazuje na nowatorskie podejście w rozwiązaniu określonego problemu naukowego.

Sposób przedstawienia wyników badań stanowi konsekwentną realizację postawionych celów badawczych. Zwarte i rzetelne opracowanie wyników jest bogato ilustrowane licznymi tabelami i wykresami. Oceniając występowanie VEGFR-2 i COX-2 w rakach jelita grubego, Autorka stwierdziła, że głębokość nacieku nowotworowego jest związana z występowaniem obu badanych biomarkerów. Podobne zależności obserwowano oceniając związek między ekspresją VEGFR-2 i COX-2, a obecnością przerzutów do węzłów chłonnych oraz wątroby, u chorych na raka jelita grubego. Przeprowadzenie przez Autorkę analizy 5-letniego i całkowitego czasu przeżycia chorych z uwzględnieniem obecności lub braku VEGFR-2 i cyklooksygenazy-2 w tkance nowotworowej umożliwiło wykazanie wpływu obu parametrów na czasy przeżycia chorych.

W dyskusji Doktorantka, konfrontuje wyniki badań własnych z danymi aktualnego piśmiennictwa. Na wstępie, Autorka uzasadnia celowość prowadzonych badań, podkreślając, że rola receptor-2 dla VEGF oraz cyklooksygenazy -2, jako czynników prognostycznych lub predykcyjnych w raku jelita grubego jest nadal nie ustalona. Omawiając wyniki badań

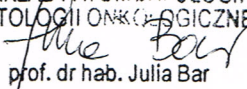
własnych, Autorka uzasadnia znacznie ocenianych białek w obszarach tkanki nowotworowej o zwiększonej kumulacji naczyń krwionośnych. Przypisuje szczególną rolę aktywności biologicznej obserwowanej przez innych autorów na granicy pomiędzy tkanką nowotworową, a podścieliskiem, co wykazała również w swojej pracy. Zdaniem Autorki, wykazanie zwiększonej ekspresji receptora-2 dla VEGF w znacznym odsetku raków jelita grubego może stanowić podstawę do zastosowania leków hamujących działanie receptorów VEGF. Doktorantka w interesujący sposób interpretuje wyniki badań własnych oceny COX-2 w rakach jelita grubego. Uważa, że różnice w ekspresji tego biomarkera mogą być wynikiem stosowanych procedur oraz użytych przeciwciał. Jednocześnie wyjaśnia, że zarówno zastosowana w pracy doktorskiej procedura przygotowania materiału, jak i interpretacja wyników badań immunohistochemicznych były wykorzystane we wcześniejszych badaniach prowadzonych w Zakładzie na dużej liczbie przypadków. Omawiając wyniki badań własnych korelacji między ekspresją VEGFR-2, COX-2, a parametrami klinicznymi i patologicznymi raka jelita grubego zwraca uwagę, że nadal brak jest jednoznacznych danych potwierdzających udział analizowanych biomarkerów w inwazyjnym wzroście raków jelita grubego. Zdaniem Autorki, wyniki przedstawione w pracy doktorskiej wskazują na udział VEGFR-2 i COX-2 w progresywnym wzroście raków jelita grubego. Doktorantka stwierdza, że wyniki analizy zależności pomiędzy obecnością VEGFR-2, COX-2, a czasami przeżycia chorych na raka jelita grubego oraz obecnością przerzutów zawarte w pracy doktorskiej są porównywalne z danymi z piśmiennictwa, w których stwierdzono niekorzystny wpływ ocenianych markerów na parametry klinicznego przebiegu choroby. Istotnym elementem dyskusji jest podkreślenie znaczenia równoczesnego występowania VEGFR-2 i COX-2 w tym samym obszarze tkanki nowotworowej. Doktorantka sugeruje, że wskazuje to na wspólne działanie obu białek w procesach angiogenezy, a drugiej strony stwarza możliwość doboru bardziej skutecznej terapii raka jelita grubego. 211 pozycji piśmiennictwa właściwie dobranych, aktualnych, odpowiednio cytowanych, świadczy o znajomości tematu i umożliwia porównanie wyników badań własnych Doktorantki z wynikami innych Autorów oraz przeprowadzenie merytorycznej dyskusji. W oparciu o uzyskane wyniki badań, Autorka formułuje 6 wniosków końcowych.

Reasumując uważam pracę doktorską lek. med. Agnieszki Radowicz-Chil za wartościowe i kompleksowe opracowanie z zakresu biologii raka jelita grubego. Jednak praca zawiera pewne elementy, które należałoby uzupełnić lub poprawić.

1. Wartościowym uzupełnieniem wyników byłoby zamieszczenie mikrofotografii z barwień immunohistochemicznych w rakach jelita grubego o zróżnicowanych parametrach kliniczno-patologicznych.
2. Wnioski są powtórzeniem wyników, a nie sugestiami lub stwierdzeniami sformułowanymi na podstawie uzyskanych wyników
3. Nieznacznej korekty wymaga tabela 3. Nazewnictwo podać w języku polskim.
4. Diagramy byłyby bardziej czytelne gdyby Autorka zaznaczyła różnice statystycznie istotne.
5. Na stronie 59, w oparciu o wyniki zawarte w tabeli 27 i 28, Autorka formułuje wniosek, że VEGFR-2 i COX-2 wykazują zbliżone własności diagnostyczne?
6. W rozdziale dyskusja, strona 63, określenie „ekspresję przeciwciał” można zastąpić poziomem lub obecnością.

Powyższe uwagi nie obniżają wartości merytorycznej pracy doktorskiej lek. med. Agnieszki Radowicz-Chil.

Wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. med. Agnieszki Radowicz-Chil do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII
I CYTOLOGII ONKOLOGICZNEJ

prof. dr hab. Julia Bar