

Prof. dr hab. med. Ryszarda Chazan
Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Pneumonologii i Alergologii
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja rozprawy doktorskiej lek med. Anny Korzeniewskiej

pt." Ekspresja Erytropoetyny i jej receptora w raku niedrobnokomórkowym płuca oraz ich znaczenie kliniczne."

Przedstawiona do recenzji praca lek med. Anny Korzeniewskiej ma układ typowy dla rozpraw doktorskich. Zawiera wstęp, założenia i cel pracy, następnie materiał i metody oraz wyniki, ich omówienie oraz wnioski. Praca liczy 100 stron wykorzystano w niej 157 pozycji piśmiennictwa polskiego i anglojęzycznego, zakończona jest wykazem skrótów, streszczeniem w języku polskim oraz spisem rycin tabel i fotografii.

Niedokrwistość jest częstą patologią u chorych z rakiem płuca dotyczy około 40% chorych, jest niezależnym, niekorzystnym czynnikiem rokowniczym. Wyniki dotychczasowych badań wskazują na dłuższy czas przeżycia chorych bez niedokrwistości w porównaniu z chorymi z obniżonym stężeniem hemoglobiny. Dodatkowo lepsze utlenowanie tkanek nowotworowych, zwiększa skuteczność radioterapii i chemioterapii poprzez tak zwany efekt tlenowy.

Erytropoetyna (EPO) jest klasycznym hormonem wydzielanym przez nerki w odpowiedzi na niedotlenienie. EPO dociera do szpiku i łączy się ze swoim receptorem (EPO-R) na powierzchni komórek układu czerwokrwinkowego, ale wykazano że EPO-R jest obecny też na innych komórkach: szpiku, śródbłonna naczyń, astrocytach, mioblastach, kardiomiocytach, a wzajemne oddziaływanie EPO/EPOR jest konieczne dla prawidłowego funkcjonowania wielu komórek organizmu zwłaszcza w sytuacji niedotlenienia.

Jednak wyniki leczenia niedokrwistości rekombinowaną EPO u chorych leczonych cytostatykami są ciągle kontrowersyjne. Stwierdzono, że podanie EPO uruchamia ekspresję genu receptora erytropoetyny (EPO-R), co wpływa na proliferację komórek nowotworowych, nasila angiogenezę, sprzyja przerzutom i w konsekwencji skraca życie. Ponadto chorzy u których nie stwierdzano EPO-R rokowali lepiej, niż ci z podwyższonym poziomem EPO-R, ale są też obserwacje, w których podanie EPO nie wpływało na przeżycie.

Podwyższony poziom EPO oraz nasiloną ekspresję receptora EPO-R wykazano na wielu komórkach nowotworowych, w tym komórkach raka płuca. Częściej niż wzrost EPO obserwowano wzrost ekspresji EPO-R. EPO poprzez receptory na powierzchni komórek nowotworowych może nasilać apoptozę proliferację i angiogenezę, prawdopodobnie w wyniku aktywacji czynników wzrostu.

Dlatego podjęcie zagadnienia które dotyczy oceny ekspresji erytropoetyny i jej receptora w raku niedrobnokomórkowym płuca uważam za bardzo interesujące i ważne z punktu widzenia klinicznego.

Cel pracy poprzedzony jest obszernym wstępem, w którym doktorantka z dużą znajomością tematu omówiła wpływ zaawansowania choroby na wybór metody leczenia i rokowanie. W drugiej części w oparciu o najnowsze pozycje światowego piśmiennictwa przedstawiła regulację ekspresji genu erytropoetyny jej budowę a następnie strukturę receptora erytropoetyny, przekazywanie sygnału oraz poza hematologiczne funkcje erytropoetyny i EPO- receptora.

Wprowadzeniem do założeń pracy jest bardzo interesujący rozdział: ekspresja i funkcja EPO i EPO-R w nowotworach, w którym doktorantka omawia kontrowersje dotyczące: wpływu rhEPO na proliferację komórek nowotworowych oraz indukowanie przez EPO oporności komórek rakowych na cytostatyki, a także mechanizm hipoksji w guzie. Omówione zostały też wyniki badań klinicznych dotyczące zastosowania erytropoetyny w chorobie nowotworowej.

Założenia pracy wynikają z istniejących rozbieżności wyników badań przedstawianych na podstawie piśmiennictwa.

Cel pracy został jasno sformułowany w oparciu o hipotezę badawczą: ocena ekspresji EPO oraz receptora EPO-R w tkance raka nie drobno-komórkowego oraz ocena ich wzajemnej zależności oraz ocena wartości rokowniczej tych parametrów.

Materiał stanowiło 103 chorych z rozpoznaniem rakiem nie drobnokomórkowym płuca w stadium I-IIA po zabiegu operacyjnym. Jasno określono kryteria włączenia do badania. Obserwacje prowadzono przez 3 lata od chwili operacji.

Bardzo przejrzysto przedstawiona została charakterystyka materiału z uwzględnieniem danych demograficznych, typu zabiegu, typu histologicznego nowotworu, stopnia zaawansowania z uwzględnieniem podziału TNM i stadiów zaawansowania.

Oznaczenia EPO i EPO-R wykonano w materiale tkankowym, który był pobrany podczas zabiegów chirurgicznych, przy zastosowaniu metody immunohistochemicznej ABC opartej o układ awidyna-biotyna. Doktorantka bardzo szczegółowo i przejrzysto opisała etapy procedury badań histochemicznych. Ocenę ekspresji badanych białek przeprowadzono w mikroskopie świetlnym w Zakładzie Patomorfologii z wykorzystaniem nowoczesnej komputerowej analizy obrazu mikroskopowego i poddana analizie statystycznej.

Ekspresje erytropoetyny wykazano u 95% badanych a receptor EPO był obecny u wszystkich badanych. Ocena ekspresji dokonana metodą immunohistochemiczną została udokumentowana 6 fotografiami, które przedstawiają ekspresje EPO i EPO-R w raku płuca płaskonabłonkowym i gruczołowym. Wyniki reakcji immunohistochemicznej przedstawiono w skali oceniającej odsetek komórek wykazujących reakcje oraz nasilenie reakcji barwnej. Nie stwierdzono zależności między reaktywnością tkanki a intensywnością reakcji barwnej.

Uzyskane wyniki poddano odpowiedniej analizie statystycznej. Wyniki przedstawiono na 31 rycinach 21 tabelach.

Doktorantka potwierdziła, że rak płuca jest często rozpoznawany późno, aż u 31% badanych dopiero w stadium IIIA, chociaż z drugiej strony blisko połowa chorych była zakwalifikowana do leczenia już w stadium I. Nie oddaje to jednak skali problemu, ponieważ do badania kwalifikowano tylko chorych do stadium IIIA i nie wiadomo jaki oni stanowili procent wszystkich chorych, diagnozowanych w tym czasie w Klinice.

Doktorantka w swoim materiale potwierdziła podobny udział procentowy chorych z rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego i gruczołowego. Odsetek chorych był podobny jak w innych badaniach I. W obu grupach nie stwierdzono zależności między stopniem zaawansowania nowotworu, a typem histologicznym raka płuca.

W badanej grupie 45% zmarło przed upływem 36 m-cy od zabiegu z czego połowa w ciągu 14m-cy 2/3 w ciągu 18m-cy. Doktorantka stwierdziła, że wśród zmiennych, które miały związek z czasem przeżycia był tylko stopień zaawansowania nowotworu. Pacjenci z przerzutami mieli dwukrotnie wyższe ryzyko zgonu. Natomiast inne zmienne płeć, wiek, liczba paczko/lat, typ histologiczny nowotworu, ani poziom ekspresji EPO i EPOR w skali IRS nie miały związku z długością życia.

Nie wykazano korelacji ekspresji EPO z cechami demograficznym: wiekiem, płcią, historią palenia ani wynikami badań klinicznych. Nie wykazano różnic w ekspresji EPO między typami histologicznymi nowotworu. Poziom ekspresji EPO nie zależał też od stadium nowotworu nie zależał również od obecności lub nie przerzutów węzłów chłonnych.

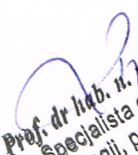
Natomiast poziom receptora EPO-R był związany wyraźnie z liczbą wypalanych papierosów oraz z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych. Poziom receptora był wyższy w grupie mężczyzn, ale nie zależało to od różnicy w płci, ale od liczby wypalanych papierosów, która była wyższa u mężczyzn. Wraz ze wzrostem liczby paczko/lat rosła ekspresja receptora EPO-R. Typ histologiczny nowotworu nie miał związku z poziomem ekspresji EPO-R, a stopień zaawansowania choroby pozostawał również bez wpływu na poziom receptora EPO-R.

Prace kończą 4 wnioski, które w pełni odpowiadają postawionym celom. Doktorantka potwierdziła wysoką czułość metody immunohistochemicznej i dla oceny ekspresji EPO i EPO-R Wykazała, że ani ekspresja EPO ani ekspresja receptora EPO-R nie może być czynnikiem predykcyjnym ani prognostycznym w niedrobnokomórkowym raku płuca. Doktorantka wysunęła też ciekawą hipotezę, że ocena ekspresji EPO-R u chorych na raka może być wskaźnikiem rokowniczym wskazującym na możliwość występowania kolejnych przerzutów do węzłów chłonnych.

W podsumowaniu chciałabym podkreślić, że oceniana przeze mnie praca została dobrze zaplanowana oraz z dużą starannością wykonana. Praca spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych.

Zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. med. Anny Korzeniewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa dn. 10 kwietnia 2014


Prof. dr hab. n. med. Ryszarda Chazan
Specjalista chorób wewnętrznych
kardiologii, pneumologii i alergologii
37 164 08