



Lublin, dnia 25.04.2014.

Recenzja pracy doktorskiej lek. med. Anety Kowal

pt.: „Związek polimorfizmu genu *HLA-G* z niedrobnokomórkowym rakiem płuca jego stopniem zaawansowania i odpowiedzią na leczenie”

promotor pracy: prof. dr hab. n. med. Renata Jankowska

Rak płuca jest najczęstszą przyczyną zgonów w powodu nowotworów złośliwych w Polsce i na świecie. Fakt ten wynika z późnego rozpoznania choroby i braku możliwości zastosowania radykalnego leczenia operacyjnego. Jedynie 15% chorych może liczyć na leczenie radykalne prowadzone z zamiarem wyleczenia chorych. U pozostałych chorych chemioterapia i radioterapia wykazuje ograniczoną skuteczność. Chemioterapia u chorych na miejscowo zaawansowanego i zaawansowanego raka płuca tylko nieznacznie wydłuża czas i poprawia jakość życia chorych na raka płuca, a odpowiedź na tego typu terapię możliwa jest do uzyskania u 30-40% chorych. Nadzieję na poprawę jakości życia i długości jego trwania niosą nowe metody leczenia, w tym przede wszystkim terapie ukierunkowane molekularnie i immunoterapia. Niestety możliwość zastosowania tego rodzaju leczenia istnieje tylko u nielicznych chorych predysponowanych genetycznie.

Najczęstszym typem patomorfologicznym raka płuca jest niedrobnokomórkowy rak płuca (NDRP), który różni się przebiegiem i możliwością leczenia od raka drobnokomórkowego (DRP). W przypadku NDRP we wczesnych stadiach klinicznych możliwe jest zastosowanie skutecznego leczenia operacyjnego, a w stadiach bardziej zaawansowanych znacznie mniej skutecznych metod chemioterapii i radioterapii. Niezwykle istotne jest poszukiwanie metod umożliwiających wczesną diagnostykę NDRP oraz czynników umożliwiających przewidzenie przebiegu choroby niezależnie od zastosowanego leczenia oraz czynników predykcyjnych wykorzystywanych we właściwej kwalifikacji do różnych metod terapii. Tomografia komputerowa stosowana w prewencji

wtórnej raka płuca okazała się mało skuteczna ze względu na olbrzymie problemy w wyodrębnieniu grupy wysokiego ryzyka zachorowania na tę chorobę, częste wyniki fałszywie dodatnie oraz wysokie koszty. Dlatego rozpoczęto poszukiwania uniwersalnych czynników biochemicznych i genetycznych, których oznaczanie w łatwy i tani sposób mogłoby znaleźć zastosowanie w diagnostyce NDRP. Pierwsze próby wykorzystania do tego celu niespecyficznych czynników, takich jak ocena stężenia LDH w surowicy krwi, zostało zastąpione bardziej zaawansowanymi metodami, takimi jak badanie polimorfizmów genowych, ekspresji genów odpowiedzialnych za karcynogenezę (mikromacierze), czy ekspresji i mutacji genów kierujących („mutacje kierujące”) komórki na drogę nowotworzenia w materiale pobranym ze zmian nowotworowych. Takim czynnikiem pozwalającym na przewidywanie przebiegu choroby po zabiegu operacyjnym oraz skuteczności chemioterapii pooperacyjnej jest między innymi ocena ekspresji i nieprawidłowości w obrębie genów naprawy DNA i warunkujących syntezę nukleotydów purynowych i pirymidynowych takich jak ERCC1, RRM1, TS, GARFT i innych.

Dlatego też przedstawiona do recenzji praca wpisuje się w nurt bardzo aktualnych badań poświęconych poszukiwaniu genetycznych czynników prognostycznych i predykcyjnych, warunkujących zarówno przebieg choroby jak i możliwość uzyskania odpowiedzi na leczenie. Autorka jako cel swoich badań wybrała polimorfizm genu *HLA-G*. Oceniała dwa polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (ang. *single nucleotide polymorphism*) w regionie promotorowym wymienionego genu, kodującego nieklasyczny antygen HLA klasy I.

Praca doktorska lek. med. Anety Kowal liczy 137 strony wydruku komputerowego i ma układ typowy dla tego typu opracowań. Zawiera bardzo dużą liczbę tabel i rycin, które znakomicie oraz w sposób niezwykle szczegółowy ilustrują wstęp pracy, zastosowane metody oraz przede wszystkim osiągnięte w pracy wyniki. Praca wykonana jest estetycznie i poprawna językowo, choć Autorka nie ustrzegła się licznych błędów interpunkcyjnych, literowych, stylistycznych i edytorskich. Niestety niektóre rozdziały zostały potraktowane bardzo skrótowo. Dotyczy to celu pracy, dyskusji i streszczenia. Piśmiennictwo liczy 87 pozycji, wśród których wyraźnie brakuje najbardziej aktualnych artykułów z lat 2012-2014.

We wstępie pracy Autorka rzetelnie i ze znajomością tematu opisuje epidemiologię raka płuca oraz metody wykorzystywane w diagnostyce tego schorzenia. Nieaktualne są jednak zalecenia dotyczące systemowego leczenia raka płuca, zwłaszcza w

zakresie nowych metod terapii ukierunkowanych molekularnie. Bardzo dobrze opisana jest funkcja genów *HLA* i ich rola w rozwoju chorób nowotworowych.

Materiały i metody są rozdziałem pracy, który został potraktowany niezwykle rzetelnie przez Autorkę, szczególnie pod względem zastosowanych metod statystycznych – ich liczba i stopień skomplikowania są imponujące. Grupa badana obejmowała 143 chorych na NDRP, u których dostępne były kompletne dane kliniczne w tym informacje o zastosowanym leczeniu. Do oceny polimorfizmów genu *HLA-G* Autorka wykorzystwała DNA izolowane z leukocytów krwi obwodowej oraz metodę PCR i elektroforezę w żelu agarozowym. Wszystkie te metody zostały dobrane odpowiednio do realizacji celów badawczych i ich wykorzystanie nie budzi żadnych zastrzeżeń.

Wyniki osiągnięte przez Autorkę, potwierdzają brak związku polimorfizmów promotora genu *HLA-G* z czasem przeżycia chorych na NDRP oraz z rozpoznaniem patomorfologicznym, zaawansowaniem cechy T, obecnością przerzutów odległych i stanem sprawności chorych oraz ryzykiem wystąpienia niedokrwistości i zaburzeń krzepnięcia. Autorka sugeruje, że nosicielstwo allela C w pozycji -725 promotora omawianego genu jest związane z występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych, ale bez wpływu na liczbę tych przerzutów, natomiast homozygoty CC w tej pozycji mają niższe ryzyko zachorowania na NDRP niż osoby z innymi genotypami genu *HLA-G*. Wyniki opublikowane przez Autorkę dotyczące związku polimorfizmu -725 C>G>T a skutecznością leczenia systemowego są wewnętrznie sprzeczne i powstały w oparciu o błędną interpretację niezwykle skomplikowanych obliczeń statystycznych. Wyniki badań epidemiologicznych oraz klinicznych dotyczących związku pomiędzy płcią i paleniem papierosów oraz stopniem zaawansowania choroby a ryzykiem wczesnego zgonu są oczywiste, inne, np. związek pomiędzy rozpoznaniem raka wielkokomórkowego a stadium zaawansowania, czy związek pomiędzy występowaniem POChP w badanej grupie a mniejszym ryzykiem zgonu chorych na NDRP należy uznać za przypadkowe.

Uzyskane wyniki umożliwiły Autorce postawienie aż 12 wniosków, które bezpośrednio są związane z uzyskanymi rezultatami.

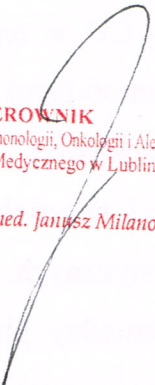
Rozdział dyskusja dowodzi dojrzałości naukowej doktorantki oraz znakomitej orientacji w danych literaturowych. Rozdział jest stosunkowo krótki, ale jak podkreśla Autorka badania przeprowadzone w pracy są pionierskie i mało jest danych literaturowych na ten temat.

W podsumowaniu stwierdzam, że praca lek. med. Anety Kowal pt.: „Związek polimorfizmu genu *HLA-G* z niedrobnokomórkowym rakiem płuca jego stopniem zaawansowania i odpowiedzią na leczenie” stanowi bardzo interesujące i oryginalne badanie, dotyczące oceny wartości czynników genetycznych w prognozowaniu przebiegu i przewidzeniu skuteczności leczenia u chorych na NDRP. Ponadto praca została zrealizowana z zastosowaniem nowoczesnych technik biologii molekularnej. Na uwagę zasługuje szeroki wachlarz metod (zwłaszcza statystycznych) zastosowanych przez Autorkę.

Praca doktorska lek. med. Anety Kowal odpowiada wszelkim wymogom stawianym rozprawie doktorskiej, posiada duże znaczenie naukowe oraz charakter badania nowatorskiego.

Wnioskuje do Wysokiej Rady Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. med. Anety Kowal do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku,



KIEROWNIK
Katedry i Kliniki Pneumonologii, Onkologii i Alergologii
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Prof. dr hab. n. med. Janusz Milanowski