

Prof. dr hab. Halina Batura-Gabryel

Poznań, 25.04.2014

Kierownik Katedry i Kliniki Pulmonologii,

Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego

w Poznaniu

RECENZJA ROZPRAWY

na stopień doktora nauk medycznych

lekarza medycyny Anety Kowal

Związek polimorfizmu genu HLA-G z niedrobnokomórkowym rakiem płuca, jego stopniem zaawansowania i odpowiedzią na leczenie

Promotor

Prof. dr hab. n. med. Renata Jankowska

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Pierwotny rak płuca (RP) jest nowotworem złośliwym wywodzącym się z komórek nabłonkowych drzewa oskrzelowego i pęcherzyków płucnych. Ważne problemy kliniczne związane z tą chorobą to: duża liczba zachorowań, późne wykrywanie choroby, brak badań skriningowych i skutecznych metod terapii. Rocznie wykrywa się ponad 20 000 chorych na raka płuca (3/4 to mężczyźni). Choroba ta jest na pierwszym miejscu wśród przyczyn zgonu z powodu nowotworów złośliwych. W Polsce 5 lat od momentu rozpoznania przeżywa mniej niż 10% chorych.

Najważniejszym czynnikiem ryzyka raka płuca jest palenie tytoniu. Dym tytoniowy związany jest z procesem inicjacji, promocji oraz progresji procesu kancerogenezy. Wiele związków chemicznych powstałych podczas spalania tytoniu ma właściwości kancerogenne lub mutagenne. Główne znaczenie mają policykliczne węglowodory aromatyczne. Inne czynniki ryzyka raka płuca to: czynniki środowiskowe w miejscu pracy i zamieszkania, w tym narażenie zawodowe oraz czynniki genetyczne (np. różne uwrażliwienie na czynniki kancerogenne środowiskowe, defekty struktury genów i ich ekspresji na poziomach DNA, RNA i białek komórkowych). W patogenezie raka płuca bardzo ważną rolę odgrywa układ immunologiczny człowieka, którego ważnym elementem jest odpowiedź

przeciwnowotworowa. Komórki nowotworowe nabywają mechanizmy przystosowawcze, które powodują „ucieczkę” spod kontroli immunologicznej. Do takich mechanizmów należy ekspresja cząsteczek HLA-G, które poprzez własne receptory wpływają hamująco na aktywność komórek odpowiedzi immunologicznej np. komórek NK czy limfocytów T. Uwarunkowania genetyczne pozostają ważnym, nadal niedostatecznie poznanym czynnikiem patogenetycznym raka płuca.

Z uwagi na dużą częstość występowania i konsekwencje zdrowotne, rak płuca pozostaje od wielu lat przedmiotem licznych badań. W/w przesłanki wpłynęły na podjęcie przez lekarza medycyny Anetę Kowal badań własnych, będących przedmiotem recenzowanej pracy.

Ocena rozprawy

Przedstawiona do oceny rozprawa ma postać wydruku komputerowego. Obejmuje ogółem 5 rozdziałów głównych zakończonych wnioskami i streszczeniem. Umieszczono również spis piśmiennictwa, wykaz stosowanych skrótów, spis tabel, wykresów i rycin. W spisie piśmiennictwa znajduje się 86 pozycji, przeważają prace w języku angielskim. Układ pracy jest typowy, konstrukcja prosta, a poszczególne jej części pozostają we właściwych proporcjach. Rozprawę zilustrowano 58 tabelami i 32 rycinami. Napisana jest poprawnym językiem polskim, a tabele i ryciny w istotny sposób przyczyniają się do łatwiejszego zrozumienia jej treści.

We wstępie Doktorantka, dokonuje wnikliwego przeglądu piśmiennictwa. W nowoczesny i zwięzły sposób przedstawia aktualne dane na temat raka płuca (definicję, epidemiologię, czynniki ryzyka, etiologię, patogenezę, rozpoznawanie i leczenie choroby) oraz wybrane elementy immunologii nowotworów (rola i patomechanizmy odpowiedzi immunologicznej w wykrywaniu i niszczeniu komórek nowotworowych w organizmie człowieka). Na zakończenie tego fragmentu wstępu doktorantka umieściła rycinę w syntetyczny sposób podsumowującą bieżącą wiedzę na temat immunoedycji nowotworowej, co przyczyniło się do lepszego zrozumienia opisywanego problemu. W kolejnych podrozdziałach wstępu autorka rozprawy szczegółowo opisała główny układ zgodności tkankowej człowieka; budowę, charakterystykę i rolę HLA-G w rozwoju nowotworu oraz polimorfizm tego genu. Podsumowując wstęp stwierdziła, że „z uwagi na własności immunomodulacyjne HLA-G. wydaje się, że zrozumienie mechanizmów regulacji ekspresji genu i roli miejsc polimorficznych w funkcjonowaniu genu może mieć implikacje

diagnostyczno-terapeutyczne". Z przesłanek przedstawionych we wstępie jasno wynika zwięźle określony **cel pracy**, jakim była ocena roli nieklasycznego antygeny HLA klasy I (HLA-G) w zachorowaniu na niedrobnokomórkowego raka płuca oraz wpływu polimorfizmu genów HLA-G na przebieg choroby. Oceniono dwa pojedyncze polimorfizmy nukleotydowe (SNP) w regionie promotorowym genu HLA-G: -725C>G>T oraz -716T>G. u chorych na raka płuca, u których określono typ histologiczny raka, stopień zaawansowania nowotworu, stopień sprawności chorych, odpowiedź na leczenie i czas przeżycia. **Materiał i metody:** Badanie przeprowadzono w zgodzie z obowiązującymi zasadami GCP (ang. *Good Clinical Practice*). Chorzy na raka płuca włączeni do badania wyrazili wcześniej świadomą dobrowolną zgodę na udział w badaniu. Badania przeprowadzono w Klinice Pulmonologii i Nowotworów Płuc Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej. Badaniami objęto 143 chorych z rozpoznaniem niedrobnokomórkowego raka płuca. Rozpoznanie choroby, ocenę stopnia zaawansowania oraz stan sprawności chorych ustalono na podstawie obowiązujących standardów patomorfologicznych i klinicznych. Chorzy byli leczeni według wytycznych PTChP, ERS/ESTS oraz ACCP. Badania genetyczne przeprowadzono w laboratorium Zakładu Immunologii Klinicznej i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, wykorzystując odpowiednio dobrane badania molekularne. Metodyka badań została szczegółowo przedstawiona w części metodologicznej recenzowanej rozprawy. **Wyniki** w grupie badanych porównano z wynikami oceny grupy osób zdrowych, przebadanej i opisanej identycznymi metodami przez tego samego wykonawcę części laboratoryjnej pracy. Uzyskane wyniki badania poddano analizie statystycznej, której metody zostały doskonale dobrane i bardzo starannie opisane. Rzetelnie i w zrozumiały sposób przedstawiono uzyskane wyniki badań immunologicznych i klinicznych oraz zależności między nimi, ilustrując je tabelami i rycinami. W wyniku przeprowadzonych analiz stwierdzono między innymi, że wraz ze wzrostem liczby alleli C w pozycji -725 znamienne wzrasta stopień zaawansowania choroby. Zaobserwowane tendencje (wpływ na zachorowanie, czas przeżycia, odpowiedź na chemioterapię czy obecność przerzutów odległych) nie osiągnęły jednak istotności statystycznej, prawdopodobnie ze względu na stosunkowo małą grupę badaną. Po dokonaniu przedstawienia wyników pracy, Doktorantka przeprowadziła wyczerpującą **dyskusję**, wykazała się znajomością tematu pracy, wnikliwie omawiając własne wyniki na tle aktualnych danych z piśmiennictwa krajowego i zagranicznego. Na podstawie obiecujących wyników przeprowadzonych badań wydaje się, że

praca powinna być w przyszłości kontynuowana w większej liczbie chorych. **Wnioski** wysnute przez autorkę pracy odpowiadają wyznaczonym celom, jednak zdaniem recenzenta powinny być nieco inaczej sformułowane.

Uwagi recenzenta

1. Dotyczące rozdziału „Wnioski”: rozprawa zawiera ciekawe wyniki, z których wnioski powinny być nieco inaczej sformułowane np. w podsumowaniu dyskusji (5.5) i w końcowych zdaniach streszczenia są zawarte ciekawe wnioski z przeprowadzonych badań. Proponuję zwrócić uwagę na te spostrzeżenia przed ostateczną publikacją tak interesującej rozprawy.
2. Brak streszczenia w języku angielskim.
3. Uwagi redakcyjne: dotyczą drobnych poprawek technicznych np. kilku drobnych błędów literowych czy stylistycznych. Niewłaściwa numeracja stron w spisie treści prawdopodobnie wynika z błędu komputerowego.

Podsumowanie recenzji

W recenzowanej rozprawie doktorskiej na uwagę zasługuje oryginalna, kompleksowa konstrukcja pracy, biorąca pod uwagę wyniki badań biomolekularnych w odniesieniu do badań klinicznych, co jest jej istotnym walorem. Przedstawione interesujące wyniki badań sugerują potrzebę dalszej ich kontynuacji. Omawiana rozprawa doktorska wpisuje się do bardzo aktualnego nurtu badań naukowych, których celem jest lepsze poznanie immunologicznych mechanizmów patogenetycznych raka płuca, co może przynieść korzyści w opracowaniu strategii diagnostyczno-terapeutycznych w tej chorobie. Przedstawione wyżej uwagi recenzenta nie zmniejszają w sposób istotny wartości pracy. Rozprawa doktorska lekarza medycyny Anety Kowal jest przygotowana starannie i rzetelnie. Stanowi ważny wkład do zasobów wiedzy pulmonologicznej. Świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do samodzielnej pracy naukowo-badawczej.

Przedstawioną do recenzji pracę oceniam pozytywnie ze względu na koncepcję tematu i wartość merytoryczną. Rozprawa lekarza medycyny Anety Kowal odpowiada wymogom stawianym na stopień doktora nauk medycznych. **Wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lekarza medycyny Anety Kowal do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Anelina Bator-Galoyel