



OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ lek. MARCINA ZIĘTKA pt. „Ocena ekspresji oraz wartości prognostycznej białek ALCAM i ADAM-10 w czerniaku skóry”.

Pomimo znacznych postępów w zakresie metod diagnostycznych oraz nowoczesnej terapii skojarzonej wyniki leczenia czerniaka złośliwego skóry w Polsce są wyraźnie gorsze niż w innych krajach europejskich i uzależnione są w dużej mierze od późnego zgłaszania się chorych.

Na wyniki leczenia wpływają także różnorodne parametry histo-kliniczne, które zwłaszcza w przypadkach czerniaka charakteryzującego się często trudnym do przewidzenia przebiegiem wymagają wciąż nowych badań, także w oparciu o zdobycze biologii molekularnej.

W ostatnich latach w tym zakresie należy podkreślić szczególnie osiągnięcia w badaniach nad wzmożoną aktywacją ścieżki sygnałowej MAPK odpowiedzialnej w większości przypadków czerniaka za regulację proliferacji komórkowej melanocytów poprzez inicjację kaskady sygnałów i powstanie kompleksu receptora o aktywności kinazy tyrozynowej ze swoistym ligandem, a w następstwie jego wpływ na aktywność białek RAS, RAF (zwłaszcza BRAF), MEK i ERK oraz cykliny D i CDK 4/6.

Określono także alternatywną drogę sygnalizacyjną w powstawaniu czerniaka z udziałem łańcucha białek PI3K/PTEN/AKT. Odkrycia te znalazły ostatnio swoje praktyczne zastosowanie we wprowadzeniu nowych leków m.in. ipilimumabu, szczepionki gp-100 czy też vemurafenibu.

Chorzy na czerniaka złośliwego umierają z powodu przerzutów odległych, których mechanizm powstawania wiąże się z wieloma złożonymi zjawiskami molekularnymi, w tym zaburzeniem adhezji komórkowej. W tym procesie istotną rolę zdaje się odgrywać m.in. białko ALCAM (activated leukocyte cell adhesion molecule), którego ekspresja jest skorelowana ze zwiększonym potencjałem metastatycznym linii komórkowych czerniaka, jak również z progresją choroby in vivo, wpływając na aktywność niektórych metaloproteinaz. Innym białkiem skupiającym od niedawna uwagę badaczy jest białko ADAM-10 (disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10) należące do metaloproteinaz

odpowiedzialnych m.in. za degradację macierzy zewnątrzkomórkowej, a także mogące mieć wpływ na regulację różnych szlaków wewnątrzkomórkowych i promocję karcinogenezy poprzez białka z rodziny EGFR oraz CD44, E-kadherynę, Notch i in.

Właśnie te dwa białka tj. ALCAM i ADAM-10 stały się przedmiotem szczegółowej analizy przeprowadzonej przez Doktoranta w przedstawionej mi do oceny rozprawie.

Praca posiada typowy układ, liczy łącznie 75stron i składa się z 10 rozdziałów.

W obszernym wstępie autor przedstawia najważniejsze dane z zakresu epidemiologii czerniaka i jego typów histoklinicznych. Omówione zostały również zasadnicze drogi sygnalizacyjne w etiopatogenezie czerniaka jako efekt skumulowanych zaburzeń molekularnych oraz zarys nowych strategii terapeutycznych w leczeniu czerniaka z uwzględnieniem nowoczesnych leków blokujących określone receptory na powierzchni komórek czerniakowych. Autor przedstawił również w osobnych podrozdziałach budowę i aktywność biologiczną obu badanych przez siebie białek tj. ALCAM i ADAM-10. W mojej opinii rozdział ten jest ciekawy, dobrze napisany i świadczy o szerokiej znajomości tematu badań. Stanowi jednocześnie płynne przejście do kolejnego rozdziału, jakim są cele i założenia pracy.

Doktorant postawił sobie za cel: ocenę ekspresji w/w białek w 104 czerniakach pierwotnych oraz 16 węzłowych ogniskach przerzutowych za pomocą metod immunohistochemicznych, jak również analizę zależności ekspresji tych białek od uznanych parametrów kliniczno-patologicznych oraz analizę wpływu ekspresji tych białek na przeżycia chorych operowanych z powodu czerniaka skóry.

Biorąc pod uwagę, że czerniak złośliwy nadal pozostaje nowotworem groźnym, trudnym do trwałego wyleczenia oraz niewiele jest dotychczas w literaturze światowej danych dotyczących roli obu tych białek w etiopatogenezie i klinice czerniaka, należy uznać wybór celów badawczych za nowatorski i trafny.

W kolejnym rozdziale Doktorant przedstawia materiał i metodykę badawczą. Analiza została oparta na bazie 104 przypadków czerniaka leczonych w jednym ośrodku tj. Dolnośląskim Centrum Onkologii we Wrocławiu, co należy uznać za liczbę wystarczającą do miarodajnej analizy statystycznej. Autor wyróżnił poszczególne podgrupy pacjentów w zależności od takich czynników, jak: płeć, lokalizacja guza, zaawansowanie TNM, a także status biopsji węzła wartowniczego. Przedstawiono również szczegółowo wybrane dane histopatologiczne takie jak: stopnie Breslowa, Clarka, wskaźnik mitotyczny, typ czerniaka i inne. Następnie zostały szczegółowo przedstawione techniki immunohistochemiczne zastosowane w trakcie badań w wyniku współpracy Doktoranta z zespołem patomorfologów. Wszystkie te dane i techniki należy uznać za właściwie dobrane i w pełni odpowiadające współczesnym wymogom określonym w stosunku do prac z zakresu onkologii.

Materiał tabelaryczny uzupełniają barwne fotografie dobrej jakości odnoszące się do przeprowadzonych barwień immunohistochemicznych, co stanowi dodatkową zaletę przedstawionej pracy.

Podobnie należy ocenić dobór metod analizy statystycznej z zastosowaniem nowoczesnych testów statystycznych uwiarygadniających wyniki badań.

Jedynie drobne zastrzeżenie, jakie nasunęło mi się podczas lektury tego rozdziału dotyczy faktu, czy w przypadku czerniaka, który w powszechnej opinii ma charakter nowotworu nieprzewidywalnego o kapryśnym przebiegu i niekiedy nawrotu po wieloletnim okresie utajenia kryterium oceny długości przeżycia pacjentów operowanych w ostatnich latach objętych badaniem (tj. np. 2011 cz 2010) jest w pełni wystarczające.

Moim zdaniem słusznie Doktorant celem ujednolicenia rozpoznań stawianych pierwotnie przez licznych patologów doprowadził do ponownej oceny wszystkich preparatów histopatologicznych, co z pewnością przyczyniło się do większej wiarygodności uzyskanych wyników.

W kolejnym rozdziale Doktorant przedstawił wyniki swoich badań w formie czytelnych tabel, wykresów oraz omówienia. W szczególności przedstawił szczegółowe korelacje pomiędzy parametrami ekspresji ALCAM w guzie pierwotnym i przerzutach a histopatologicznymi cechami czerniaka, z których wynika m.in., że wzrost ekspresji ALCAM w komórkach czerniakowych ogniska pierwotnego jest ściśle skorelowany z głębszym naciekiem wg Breslowa oraz wyższym stopniem zaawansowania wg Clarka, a także obecnością owrzodzenia i wzrostem wskaźnika mitotycznego.

Mniej zależności istotnych statystycznie autor zaobserwował w odniesieniu do badań nad ekspresją białka ADAM-10. Jedynie ekspresja tego białka w ogniskach przerzutowych zdaniem autora wykazała znaczenie prognostyczne.

Moim zdaniem w omówieniu wyników można by podjąć próbę odniesienia się do zaobserwowanej przez Doktoranta prawidłowości, że wysoki odsetek ALLAM- dodatnich komórek czerniaka z guza pierwotnego jest znamienym czynnikiem złego rokowania (ryc.2) w połączeniu z obserwacją, że obniżona ekspresja ALCAM w komórkach nowotworowych z węzłowych ognisk przerzutowych koreluje z krótszym czasem przeżycia (ryc.3)

Ponadto ciekawe być może byłoby uwzględnienie w analizie końcowej zwłaszcza dotyczącej długości przeżycia pacjentów- czy i jakie mieli zastosowane leczenie systemowe, które niewątpliwie może modyfikować ostateczny przebieg choroby; podobnie podnosi się ostatnio rolę doświadczenie chirurga-operatora jako niezależnego czynnika prognostycznego w chirurgii onkologicznej.

Ogólnie informacje przedstawione w rozdziale „Wyniki” uważam za bardzo interesujące, nowatorskie oraz przedstawione czytelnie i logicznie w oparciu o przeprowadzone wszechstronne analizy statystyczne, a także odpowiadające na zasadnicze cele pracy.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorant odnosi uzyskane przez siebie wyniki do danych z literatury medycznej dotyczącej omawianego zakresu. Tekst jest dobrze napisany i świadczy o szerokiej wiedzy Doktoranta, swobodnie poruszającego się w temacie pracy.

Doktorant wykazuje umiejętność krytycznego odniesienia się do uzyskanych przez siebie wyników prezentując niektóre doniesienia nie do końca zbieżne z obserwacjami własnymi, co pozytywnie świadczy o dojrzałości naukowej autora i jego umiejętnościach analitycznych.

Za ciekawy uznaję również końcowy fragment dyskusji, gdzie autor przedstawia wyniki badań obu analizowanych białek w innych nowotworach, gdzie jak się okazuje wyniki końcowe mogą być dokładnie odwrotne (np. w raku prostaty) niż w czerniaku lub też nie mają istotnego znaczenia statystycznego.

W pełni należy się zgodzić z końcowym stwierdzeniem tego rozdziału, że z uwagi na sprzeczne i niepełne dane dotyczące roli podwyższonej ekspresji ALCAM i ADAM-10 w indukcji i progresji nowotworów wskazane są dalsze badania oparte o analizy dużych grup pacjentów w poszczególnych typach i lokalizacjach guzów.

W kolejnym rozdziale Doktorant przedstawił 5 wniosków podsumowujących wyniki przeprowadzonych przez siebie badań. Do najważniejszych zaliczyłbym dwa początkowe, potwierdzające istotną rolę oceny ekspresji białka ALCAM w komórkach czerniaka w guzie pierwotnym dla określenia rokowania u chorych operowanych z powodu tego nowotworu oraz wskazujące na korelację ekspresji tego białka z wybranymi czynnikami histoklinicznymi.

W moim przekonaniu zasadnicze wnioski zostały sformułowane poprawnie i zgodnie z celami pracy. Niepotrzebne wydaje mi się jedynie ponowne przywoływanie szczegółowych danych liczbowych we wniosku nr 5 podanych uprzednio w rozdziale dotyczącym wyników. Wniosek ten jest również nieco niespójny, traktujący zarazem o czynnikach klasycznych, jak i o białku ALCAM, a przez to niezbyt czytelny.

Wkradły się też drobne błędy literowe np. we wniosku nr 3 stwierdzenie „niezamienny statystycznie” zamiast „nieznamienny statystycznie”.

Jednak drobne zastrzeżenia nie umniejszają mojej wysokiej oceny pracy ze względu na jej nowatorstwo, klarowny styl i wagę kliniczną.

Pracę podsumowuje spis piśmiennictwa (107 pozycji) w większości aktualnego i nawiązującego do tekstu oraz streszczenie w języku polskim i angielskim wraz z wykazem zastosowanych skrótów ułatwiających zrozumienie tekstu.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia wymogi ustawy, a interesujące i oryginalnie opracowane wyniki i wnioski mogą mieć

w przyszłości potencjalne zastosowanie w praktyce klinicznej. Zatem mam zaszczyt i przyjemność złożyć do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. med. Marcina Ziętka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Olsztyn, 3.06.2014

KIEROWNIK
Kliniki Chirurgii Onkologicznej i Ogólnej
UWM w Olsztynie
Tenderenda
Prof. nzw. dr hab. n. med. Michał Tenderenda